

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
PROGRAMA DE DOUTORADO INTEGRADO EM ZOOTECNIA

CARACTERIZAÇÃO ZOOMÉTRICA E GENÉTICA DE OVINOS MORADA
NOVA

REGINA CELY BENÍCIO DA SILVA

AREIA - PB
FEVEREIRO - 2012

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
PROGRAMA DE DOUTORADO INTEGRADO EM ZOOTECNIA**

**CARACTERIZAÇÃO ZOOMÉTRICA E GENÉTICA DE OVINOS MORADA
NOVA**

REGINA CELY BENÍCIO DA SILVA

Zootecnista

**AREIA - PB
FEVEREIRO - 2012**

REGINA CELY BENÍCIO DA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO ZOOMÉTRICA E GENÉTICA DE OVINOS
MORADA NOVA**

Tese apresentada ao Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba, Universidade Federal Rural de Pernambuco e Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Zootecnia.

Área de Concentração: Produção Animal
(Conservação de Recursos Genéticos)

Comitê de Orientação:

Prof^o. Dr. Edgard Cavalcanti Pimenta Filho - Orientador Principal

Prof^a. Dra. Maria Norma Ribeiro – Co-orientadora

Pesquisador Dr. Samuel Resende Paiva – Co-orientador

**AREIA - PB
FEVEREIRO - 2012**

Ficha Catalográfica Elaborada na Seção de Processos Técnicos da
Biblioteca Setorial do CCA, UFPB, Campus II, Areia – PB.

S586c Silva, Regina Cely Benício da.
Caracterização zoométrica e genética de ovinos Morada Nova. /
Regina Cely Benício da Silva. - Areia: UFPB/CCA, 2012.
80 f.

Tese (Doutorado em Zootecnia) - Centro de Ciências Agrárias.
Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2012.

Bibliografia.

Orientador: Edgard Cavalcanti Pimenta Filho.

1. Ovinos – raça Morada Nova 2. Ovinos – Zoometria 3. Ovinos
– genética I. Pimenta Filho, Edgard Cavalcanti (Orientador) II.
Título.

UFPB/CCA

CDU: 636.32/.38

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

PARECER DE DEFESA DO TRABALHO DE TESE

TÍTULO: "Caracterização zoométrica e genética de ovinos Morada Nova"


AUTORA: Regina Cely Benício da Silva

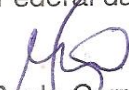
ORIENTADOR: Prof. Dr. Edgard Cavalcanti Pimenta Filho

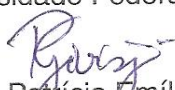
JULGAMENTO


CONCEITO: APROVADO

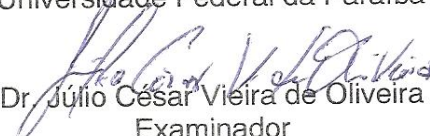
EXAMINADORES:


Prof. Dr. Edgard Cavalcanti Pimenta Filho
Presidente
Universidade Federal da Paraíba


Prof. Dr. Marcos Paulo Carrera Menezes
Examinador
Universidade Federal da Paraíba


Profa. Dra. Patrícia Emília Naves Givisiez
Examinadora
Universidade Federal da Paraíba


Prof. Dr. George Rodrigo Beltrão da Cruz
Examinador
Universidade Federal da Paraíba


Dr. Júlio César Vieira de Oliveira
Examinador
Instituto Pesquisa Agropecuária

Areia, 29 de fevereiro de 2012

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

REGINA CELY BENÍCIO DA SILVA – nascida na cidade de Palmares - PE, em 29 de Maio de 1978, filha de Maria do Socorro Benício da Silva e José Adalberto da Silva. Em Agosto de 1998, iniciou o curso de Zootecnia na Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE. Durante a graduação foi bolsista do Programa de Iniciação Científica - CNPq. Em Novembro de 2003, graduou-se em Zootecnia pela UFRPE. Em Março de 2005, ingressou no curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção de Ruminantes, da UFRPE, no qual foi bolsista do CNPq, concluindo o curso em Fevereiro de 2007. Em Março de 2008 ingressou no Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia/UFPB/UFRPE/UFC, área de concentração em Produção de Ruminantes com ênfase em Conservação de Recursos Genéticos Animais, onde foi bolsista CNPq. Durante este período, participou de missão de estudos na Universidade Estadual Paulista-Jaboticabal-SP, através do Programa de Cooperação Acadêmica-PROCAD/CAPES. Em 29 de fevereiro de 2012 submeteu-se à defesa desta tese, para obtenção do título de Doutora em Zootecnia.

*“Talvez não tenha conseguido fazer
O melhor, mas lutei para que o melhor fosse
Feito. Não sou o que deveria ser, mas
Graças a Deus, não sou o que era antes”.*

(Martin Luther King)

*“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos
não é senão uma gota de água no Mar. Mas o
Mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.*

(Madre Teresa de Calcutá)

A Deus,

Todo poderoso, nosso Pai misericordioso que tudo pode. Que nos ilumina, nos guia, nos dá força e coragem para seguirmos adiante, confiantes na sua bondade e misericórdia sempre. A Ti senhor toda honra e toda glória, sem Ti não somos nada, obrigada por tudo.

A minha Família,

Minha mãe Maria do Socorro Benício da Silva, pela sua dedicação, força e incentivo sempre. Minha eterna gratidão e amor por tudo.

A minha irmã Marystella Benício da Silva e minha sobrinha Larissa Rafaela da Silva, pelo amor e apoio.

Ao meu amado e querido amigo e esposo, Rinaldo José de Souto Maior Júnior, pelo amor, compreensão, paciência, respeito, por ser tão amigo e companheiro, ótimo pai e esposo e também pela grande colaboração no material escrito, enfim muito obrigada por ser tão presente em minha vida.

Ao ser mais importante e amado da minha vida, meu querido filho, Rinaldo José de Souto Maior Neto (Netinho). Que Deus permitiu que chegasse em nossas vidas nesse momento tão importante de conclusão do doutorado, para nos trazer felicidades a cada dia, nos encher de amor, um amor tão sublime e incondicional que transforma e deixa tudo mais suave.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal da Paraíba, principalmente ao Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia, pela oportunidade de fazer o Curso de Doutorado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao BNB, pelo financiamento da pesquisa.

Ao professor Edgard Cavalcanti Pimenta Filho, pela orientação, amizade, companheirismo, conversas, viagens e grande ajuda nas coletas em campo.

À Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, DF, em especial ao Laboratório de Genética Animal (LGA), pela oportunidade de realizar as atividades referentes a este trabalho, em especial ao Pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, DF, Doutor Samuel Rezende Paiva, pela sua valiosa orientação, contribuição, paciência e atenção, mostrando-se sempre solícito em todos os momentos que precisei, serei sempre muito grata pela sua ajuda.

À professora Maria Norma Ribeiro, pela orientação e pelas sugestões no material escrito.

A UNESP/Jaboticabal, em especial a Professora Dra. Lucia Galvão de Albuquerque, pela oportunidade do estágio.

A todos os docentes do Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia, PPGZ/PDIZ/CCA/UFPB, pela contribuição ao meu crescimento científico e profissional.

Aos professores da Banca Examinadora, Prof. Marcos Paulo Carrera Menezes, Prof^ª. Patrícia Emília Naves Giviziez, Prof. George Rodrigo Beltrão da Cruz e o Pesquisador Júlio César Vieira de Oliveira, pelas valiosas contribuições neste trabalho.

Aos Funcionários do PPGZ, Dona Graça, Dona Carmen e Seu Damião.

A todos os responsáveis pelos rebanhos analisados nos Estados do Ceará, Paraíba, Pernambuco e Rio Grande do Norte, por permitirem a realização deste estudo.

À professora Débora, Jacinara (Narinha), Dowglish e Wirton, pela ajuda valiosa nas coletas de campo, pela amizade, por todos os bons momentos vividos nas nossas viagens de coleta de dados.

Aos colegas de Pós-Graduação Humberto, Agenor, Helton, Andreia e Marcelo, pela participação nas coletas de campo.

A Ebson e Núbia pela contribuição nas análises estatísticas.

A doutoranda da Universidade de Brasília/DF Elizabete Cristina da Silva, pela enorme ajuda nas atividades de laboratório e nas análises estatísticas, pela amizade, companheirismo e por todos os momentos compartilhados em Brasília/DF.

Aos amigos do PDIZ, Rosângela, Cicília, Lúgia, Darklê, Andrezza, Jussara, Ana Paula, Aurinês, Luciana, Alexandre, Tobiyas, Carol, Thadeu, Rebeca, Ebson, Wirton, Serjão, Marcos Jácome, Welington, Gabriela, Geovania, e muitos outros, pelos momentos inesquecíveis, convívio e ciclo de amizade que criamos ao longo desses anos.

A minha amiga Daniely Sales Guedes, por ter me acolhido em Jaboticabal/SP, pelo companheirismo, amizade e por ter compartilhado comigo momentos bons e ruins.

Às amigadas que conquistei no Laboratório de Genética Animal (LGA), Bete, Iassudara, Carol, Lilian, Bárbara, Priscila, Ronyere, Gleison, Vanessa, Ângela e Patrícia Ianella, pelos momentos de descontrações e apoio;

Por fim, agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho, fazendo parte dessa longa e suada jornada.

MEUS SINCEROS AGRADECIMENTOS A TODOS!!!

SUMÁRIO

	Página
Listas de Tabelas.....	xi
Listas de Figuras.....	xiii
Resumo Geral.....	xv
Abstract.....	xvi
 Considerações Iniciais.....	 1
 Capítulo I – Caracterização Zoométrica de Ovinos Morada Nova.....	 3
Resumo.....	4
Abstract.....	5
Introdução.....	6
Material e Métodos.....	7
Resultados e Discussão.....	11
Conclusões.....	19
Referências Bibliográficas.....	20
 Capítulo II – Caracterização Genética de Ovinos Morada Nova	 22
Resumo.....	23
Abstract.....	24
Introdução.....	25
Material e Métodos.....	26
Resultados e Discussão.....	34
Conclusões.....	50
Referências Bibliográficas.....	51
 Considerações Finais e Implicações.....	 55
 Apêndices.....	 56

Apêndice A. Capítulo II. Metodologia Extração DNA	57
Apêndice B. Capítulo II. Tabela B	59
Apêndice C. Capítulo II. Figura C	62

LISTAS DE TABELAS

Capítulo I - Caracterização Zoométrica de Ovinos Morada Nova

	Pagina
Tabela 1. Origem do material biológico, variedades, número de animais e siglas das populações estudadas de ovinos da raça Morada Nova.....	8
Tabela 2. Médias, desvios-padrão (DP), coeficientes de variação (CV) e nível de significância (P) para as características zoométricas de ovinos da raça Morada Nova em machos adultos por Estados.....	11
Tabela 3. Médias, desvios-padrão (DP), coeficientes de variação (CV) e nível de significância (P) para as características zoométricas de ovinos da raça Morada Nova em fêmeas adultas por Estados.....	13
Tabela 4. Autovalores e percentuais de variâncias explicadas pelos componentes principais das medidas zoométricas de ovinos da raça Morada Nova em machos adultos, de acordo com as populações avaliadas.....	14
Tabela 5. Coeficiente de Ponderação das variáveis com dez componentes principais menos importantes para explicar a variação total das medidas zoométricas de ovinos da raça Morada Nova em machos adultos, de acordo com as populações avaliadas.....	15
Tabela 6. Autovalores e percentuais de variâncias explicadas pelos componentes principais das medidas zoométricas de ovinos da raça Morada Nova em fêmeas adultas, de acordo com as populações avaliadas.....	16
Tabela 7. Coeficiente de Ponderação das variáveis com oito componentes principais menos importantes para explicar a variação total das medidas zoométricas de ovinos da raça Morada Nova em fêmeas adultas, de acordo com as populações avaliadas.....	17

LISTAS DE TABELAS

Capítulo II - Caracterização Genética de Ovinos Morada Nova

	Pagina
Tabela 1. Origem do material biológico, variedades, número de animais e siglas das populações estudadas de ovinos da raça Morada Nova.....	28
Tabela 2. Nome dos loci, sequências dos primers, tamanho dos fragmentos, fluorocromo e reações multiplex.....	31
Tabela 3. Análise de variância molecular (AMOVA) para as populações ovinas estudadas.....	34
Tabela 4. Distâncias pareadas (F_{ST}) entre as 32 populações ovinas estudadas.....	36
Tabela 5. Proporções das populações pré-definidas em cada cluster inferido para K=3 e K=5.....	39
Tabela 6. Estimativas por locus de índices relacionados à variabilidade genética de ovinos da raça Morada Nova com 23 marcadores SSR, nos Estados avaliados.....	41
Tabela 7. Estimativas de índices relacionados à variabilidade genética das populações de ovinos da raça Morada Nova, nos Estados avaliados.....	43
Tabela 8. Estimativas dos índices relacionados à variabilidade genética intrapopulacional das populações fragmentadas de ovinos da raça Morada Nova.....	44
Tabela 9. Análise de variância molecular (AMOVA) para as populações fragmentadas de ovinos da raça Morada Nova.....	45
Tabela 10. Matriz de distância Dtl entre cada par das populações investigadas de ovinos da raça Morada Nova.....	47
Tabela B. Protocolos das reações da polimerase em cadeia (PCR) para cada multiplex.....	59

LISTAS DE FIGURAS

Capítulo I - Caracterização Zoométrica de Ovinos Morada Nova

	Pagina
Figura 1. Mapa do Brasil (esquerda) e a região Nordeste (direita), mostrando os Estados onde foram coletadas as amostras das populações estudadas de ovinos da raça Morada Nova. CE = Estado do Ceará; RN = Estado do Rio Grande do Norte; PB = Estado da Paraíba e PE = Estado de Pernambuco.....	7
Figura 2. Representação dos locais de tomada das medidas zoométricas.....	10
Figura 3. Agrupamento das 33 populações da raça Morada Nova, de acordo com as medidas zoométricas dos machos estudados.....	17
Figura 4. Agrupamentos das 33 populações da raça Morada Nova, de acordo com as medidas zoométricas das fêmeas estudadas.....	18

LISTAS DE FIGURAS

Capítulo II - Caracterização Genética de Ovinos Morada Nova

	Pagina
Figura 1. Mapa do Brasil (esquerda) e a região Nordeste (direita), mostrando os Estados onde foram coletadas as amostras das populações estudadas de ovinos da raça Morada Nova. CE = Estado do Ceará; RN = Estado do Rio Grande do Norte; PB = Estado da Paraíba e PE = Estado de Pernambuco.....	27
Figura 2. Estimativa do melhor K pela estatística DeltaK para as populações inferidas com o programa Structure, que variou de K1 a K33 para as 32 populações.....	37
Figura 3. Distribuição da estrutura genética das 32 populações de ovinos Morada Nova investigadas neste estudo com o programa Structure para K=3 e K=5.....	38
Figura 4. Árvore de distância genética agrupada pelo método Neighbor-Net baseada nos valores da distância Dtl, demonstrando as relações genéticas entre as populações investigadas de ovinos da raça Morada Nova.....	48
Figura 5. Representação da análise de coordenadas principais (CP) das 32 populações obtidas a partir da distância genética Dtl.....	49
Figura C. Distribuição da estrutura genética dos 470 ovinos investigados neste estudo com o programa <i>Structure</i> para K=33.....	62

CARACTERIZAÇÃO ZOOMÉTRICA E GENÉTICA DE OVINOS MORADA NOVA

RESUMO GERAL

Objetivou-se com esse trabalho caracterizar fenotipicamente e geneticamente, os rebanhos de ovinos Morada Nova de quatro Estados do Nordeste brasileiro, através de medidas zoométricas e análise de vinte e três marcadores de microssatélites. Foram realizadas coletas em 33 rebanhos nos Estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba e Pernambuco, localizados na região semiárida do Nordeste brasileiro. Em cada propriedade foram mensurados 20 animais adultos, nos quais foram realizadas catorze medidas zoométricas para caracterização dos rebanhos quanto ao padrão morfoestrutural, como também foram coletadas amostras de pelos totalizando 470 animais: 198 amostras de ovinos criados no Estado do Ceará (14 populações), 118 da Paraíba (7 populações), 45 de Pernambuco (3 populações) e 109 do Rio Grande do Norte (8 populações). Os resultados do estudo de zoometria demonstraram que há formação de subgrupos da raça Morada Nova na região Nordeste do Brasil e o estudo genético sugere a existência de uma subestruturação das populações da raça, mostrando que há variabilidade genética entre as populações e dentro das populações, sendo maior a diversidade dentro que entre populações. O rebanho RNG, localizada no Estado do Rio Grande do Norte, é distante geneticamente das demais populações de ovinos Morada Nova, tornando-se rebanho referência para a conservação da raça e para futuros estudos sobre sua diversidade genética. As variedades da raça Morada Nova com pelagem vermelha e pelagem branca são geneticamente distintas, dessa forma recomenda-se futuros estudos para uma avaliação mais detalhada.

Palavras-chave: Conservação; Recurso Genético; Zoometria

ZOOMETRIC AND GENETIC CHARACTERIZATION OF MORADA NOVA BREED OF SHEEP

ABSTRACT

The aim of the present study was to offer a phenotypic and genetic characterization of herds of the Morada Nova breed of sheep in four states in northeastern Brazil through zoometric measures and an analysis of 23 microsatellite markers. Collections were performed among 33 herds in semi-arid regions of the states of Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba and Pernambuco. Twenty adult sheep were analyzed on each property. Fourteen zoometric measures were performed for the characterization of the morphostructural pattern of the herds. Moreover, fleece samples were collected for the genetic analysis of 470 animals: 198 from the state of Ceará (14 populations), 118 from Paraíba (7 populations), 45 from Pernambuco (3 populations) and 109 from Rio Grande do Norte (8 populations). The results of the zoometric study demonstrate the formation of subgroups of the Morada Nova breed in northeastern Brazil and the genetic study suggests sub-structuring of the populations, with genetic variability both between and within populations. Genetic variability was greater between populations. The RNG herd located in the state of Rio Grande do Norte is genetically distant from the other populations of Morada Nova sheep, making it the reference herd for the conservation of the breed as well as for future studies on genetic diversity. The varieties of Morada Nova with reddish fleece are genetically distant from those with white fleece. Further studies are needed for a more detailed evaluation.

Keywords: Conservation; Genetic Resource; Zoometry

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Dentre os recursos genéticos animais formados no Nordeste Brasileiro, destaca-se a raça ovina Morada Nova, com evidentes vantagens comparativas em relação a outros grupamentos genéticos no que tange ao valor adaptativo, à qualidade da pele, à habilidade materna, à prolificidade, à eficiência reprodutiva, entre outras características de interesse na exploração pecuária. Por apresentar um porte menor se comparada a outras raças, deixou de receber a devida atenção pela maioria dos criadores e de grande parte das instituições públicas. Enquanto isso, a cultura de valorização de animais especializados, de maior porte, tem ameaçado, severamente, a manutenção da população desses ovinos nativos em seu estado de pureza racial.

Tem-se como paradigma, porém, que a produção de carne e pele por unidade de área e unidade de tempo, vinculada ao seu custo, não é, ainda, conhecida para a grande maioria das raças ovinas. Ao mesmo tempo, há suficientes motivos para defender a tese de que a raça ovina Morada Nova tem suficiente habilidade para garantir sustentabilidade da produção de carne e pele na região semi-árida brasileira. E a questão que se coloca agora é a eminência de erosão genética causada por cruzamentos desordenados e a perda de variabilidade genética causada pelo reduzido tamanho da população associada ao isolamento da maioria dos rebanhos. Com isso, estaria sendo ameaçada não apenas a biodiversidade animal, mas um equipamento biológico que deve favorecer, principalmente, os pequenos produtores.

Há, portanto, uma indiscutível necessidade de iniciar trabalhos que possam subsidiar as estratégias de gestão genética da raça, ao mesmo tempo em que são articuladas ações de pesquisa que levem ao definitivo conhecimento de todas as potencialidades da produção juntamente com um trabalho de valorização dos produtos. Além da caracterização genética, a mensuração de características morfométricas, também chamada de caracterização morfológica, biométrica ou zoométrica, é uma importante ferramenta para o enquadramento de um indivíduo dentro de um grupamento racial, e deve ser utilizada em programas de melhoramento e conservação animal juntamente com outros meios de controle, como os dados de registro genealógico e as técnicas de biologia molecular.

Com o advento do avanço de conhecimentos sobre o tema, ficou claramente percebida a necessidade de avançar para a utilização dos recursos genéticos dentro de um contexto de sistema de produção sustentável com claras vantagens econômicas para os criadores.

Estrategicamente, o Grupo de Pesquisa em Conservação de Recursos Genéticos Animais planejou que seria eleito um grupo genético que tivesse uma distribuição geográfica mais ampla e apresentasse vantagens que mais facilmente conquistasse adeptos entre os criadores. As avaliações convergiram naturalmente para a indicação da raça ovina Morada Nova como o grupo genético escolhido para um trabalho integrado por várias instituições e com uma característica multidisciplinar.

As articulações para a construção dessa proposta foram iniciadas por ocasião da 43^a Reunião da Sociedade Brasileira de Zootecnia que ocorreu na cidade de João Pessoa, Paraíba, em julho de 2006. Ainda no mesmo ano, por ocasião do III Congresso Nordestino de Produção Animal, em Petrolina, Pernambuco, foi dada continuidade a esse trabalho de articulação das bases de pesquisa. Em fevereiro de 2007, definiram-se as áreas com perspectivas de execução de pesquisa imediata, em Sobral, Ceará, na Embrapa Caprinos.

Construiu-se, a partir daí, o projeto Caracterização e Fundamentos para o Melhoramento Genético de Ovinos Morada Nova, liderado pela Embrapa Caprinos e financiado pela própria Embrapa. Simultaneamente, várias propostas foram enviadas para outras agências de financiamento, a exemplo do projeto Contribuição para a Conservação dos Ovinos Morada Nova – Caracterização Genética aprovado pelo FUNDECI/ETENE, e do projeto Qualidade da carcaça e da carne de ovinos da raça Morada Nova inteiros e castrados terminados em confinamento, aprovado pelo CNPq no Edital Universal 14/2008.

Diante do exposto, serão apresentados dois capítulos de resultados desta pesquisa: o capítulo I aborda a Caracterização Zoométrica de Ovinos Morada Nova e; o capítulo II aborda a Caracterização Genética de Ovinos Morada Nova. Por fim, serão realizadas as considerações finais e algumas implicações sobre o assunto abordado.

CAPITULO I

Caracterização Zoométrica de Ovinos Morada Nova

CARACTERIZAÇÃO ZOOMÉTRICA DE OVINOS MORADA NOVA

RESUMO

Objetivou-se com este estudo caracterizar os rebanhos de ovinos Morada Nova de quatro Estados do Nordeste brasileiro através de medidas zoométricas. Foram mensurados 20 animais adultos de 33 rebanhos nos Estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba e Pernambuco, localizados na região semiárida do Nordeste brasileiro. Foram tomadas catorze medidas zoométricas: longitude da cabeça ou comprimento da cabeça (LCb), longitude do rosto (LR), largura da cabeça (LC), comprimento do corpo (CC), perímetro torácico (PT), altura da cernelha (AC), altura da garupa (AG), largura da garupa (LG), longitude da garupa (LoG), perímetro da canela anterior (PM), perímetro da canela posterior (PC), comprimento de orelha (CO), largura da orelha (LO) e perímetro escrotal (PES). Para realização das medidas foram utilizadas fita métrica e trena (comprimentos, larguras e perímetros) e bastão zoométrico (comprimentos e alturas). A análise de agrupamento mostrou que foram determinados subgrupos da raça Morada Nova na região Nordeste do Brasil. Das 14 medidas avaliadas a análise permitiu reduzir para quatro medidas importantes para ambos os sexos (LC, LO, LG e PC), além de duas medidas para os machos (AC e LoG) e duas medidas para as fêmeas (CO e AG). A análise de componentes principais foi eficiente na redução do número de medidas necessárias para a avaliação zoométrica de machos e fêmeas da raça Morada Nova nas diferentes populações estudadas.

Palavras-chave: Características Raciais, Componentes Principais, Zoometria

ZOOMETRIC CHARACTERIZATION OF MORADA NOVA BREED OF SHEEP

ABSTRACT

The aim of the present study was to characterize herds of the Morada Nova breed of sheep in four states in northeastern Brazil through zoometric measures. Twenty adult sheep were measured from among 33 herds in semi-arid regions of the states of Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba and Pernambuco. Fourteen zoometric measures were taken: head length (HL), face length (FL), head width (HW), body length (BL), thorax diameter (TD), height to withers (HW), rump height (RH), rump width (RW), rump length (RL), anterior shank diameter (AS), posterior shank diameter (PS), ear length (EL), ear width (EW) and scrotum diameter (SD). A tape measure (lengths, widths and diameters) and zoometric ruler (lengths and heights) were used for the measurements. Cluster analysis demonstrated subgroups of the Morada Nova breed in northeastern Brazil. Principal component analysis allowed reducing the number of measures necessary for the zoometric evaluation of the different populations of sheep of the Morada Nova breed to four important measures for both genders (HW, EW, RW and PS) as well as two measures for males (HW and RL) and two for females (EL and RH).

Keywords: Breed Characteristics, Principal Component Analysis, Zoometry

INTRODUÇÃO

As espécies caprinas e ovinas, ao longo de séculos, têm demonstrado a importância da condição de rusticidade de que são portadoras (Machado et al., 2000). Os ovinos tornaram-se um recurso genético de extrema importância para a população das regiões semiáridas, do Nordeste brasileiro. A criação de ovinos constitui-se em um dos mais importantes componentes que alicerçam a sobrevivência da produção agropecuária na região, o efetivo é cerca de 9 milhões de cabeças, o que corresponde a 56% do total Nacional, fazendo com que a região Nordeste situe-se como a grande produtora brasileira de pequenos ruminantes (IBGE, 2010).

Dentre os recursos genéticos animais formados no Nordeste Brasileiro, destaca-se a raça ovina Morada Nova, com qualidades que se destacam em relação a outros grupamentos genéticos no que tange ao valor adaptativo, à qualidade da pele, à habilidade materna, à prolificidade, à eficiência reprodutiva, entre outras características de interesse na exploração pecuária. Por apresentar um porte reduzido, deixou de receber a devida atenção pela maioria dos criadores e de grande parte das instituições públicas. Enquanto isso, a cultura de valorização de animais especializados, de maior porte, tem ameaçado, severamente, a manutenção da população desses ovinos nativos em seu estado de pureza racial.

A caracterização zoométrica de animais, também chamada de caracterização morfológica, biométrica ou morfométrica, consiste na realização de mensurações corporais nos animais com a finalidade de compará-las. Deve sempre ser feita em machos e fêmeas separadamente, de preferência em idade adulta, a fim de se obter a média, desvio padrão e coeficiente de variação por sexo e por população, servindo como ferramenta importante no estudo da variabilidade genética dentro e entre populações, podendo ser utilizada em programas de conservação e melhoramento de uma raça (Peixoto, 1990), juntamente com outras ferramentas como as técnicas de biologia molecular.

O uso de análises multivariadas para estudos de caracterização fenotípica através de variáveis morfológicas se mostra bastante eficaz para medir a variação existente dentro de uma população. Esse tipo de análise permite identificar a existência de

subpopulações dentro de raça, uma vez que considera todas as variáveis simultaneamente (Traoré, 2008).

Uma das ferramentas estatísticas mais usadas na elucidação do grau de importância de medidas zoométricas para a caracterização racial é a análise de componentes principais (Monteiro, 2002). A técnica de componentes principais tem como vantagem adicional avaliar a importância de cada característica estudada sobre a variação total, possibilitando o descarte das variáveis menos discriminantes (redundantes), por estarem correlacionadas a outras variáveis, pela sua invariância ou por ser combinação linear de outras características (Cruz & Regazzi, 2001).

Desta forma, com este trabalho objetivou-se caracterizar zoometricamente os ovinos da raça Morada Nova no Nordeste brasileiro, com base em medidas zoométricas.

MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi realizada com dados de medidas corporais de ovinos da raça Morada Nova, pertencentes a 33 rebanhos dos Estados do Ceará, Paraíba, Pernambuco e Rio Grande do Norte, localizados na região semiárida do Nordeste brasileiro (Figura 1).

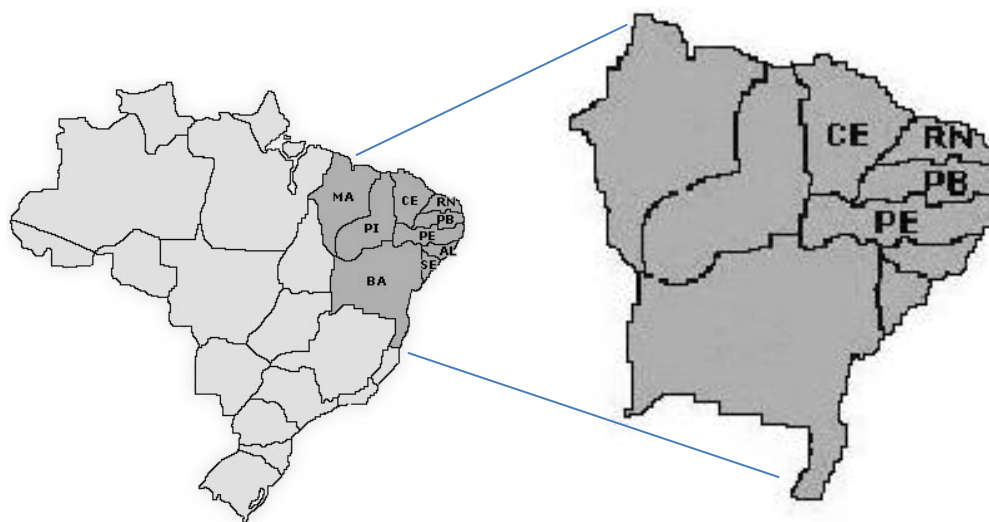


Figura 1. Mapa do Brasil (esquerda) e a região Nordeste (direita), mostrando os Estados onde foram coletadas as amostras das populações estudadas de ovinos da raça Morada Nova. CE = Estado do Ceará; RN = Estado do Rio Grande do Norte; PB = Estado da Paraíba e PE = Estado de Pernambuco.

Fonte: Kotait et al. (2007).

Das 33 populações estudadas (Tabela 1), duas eram representadas por animais

Tabela 1. Origem do material biológico, variedades, número de animais e siglas das populações estudadas de ovinos da raça Morada Nova

Siglas	Cidades	Estados	Localidade*	Variedades	N	Sexo	
						M	F
CEA 1	Limoeiro do Norte	Ceará-CE	Fazenda	Vermelho	17	1	16
CEB 2	Quixeramobim	Ceará-CE	Emater-CE	Vermelho	22	2	20
CEC 3	Morada Nova	Ceará-CE	Fazenda	Vermelho	27	7	20
CED 4	Morada Nova	Ceará-CE	Fazenda	Vermelho	23	3	20
CEE 5	Morada Nova	Ceará-CE	Fazenda	Vermelho	25	5	20
CEF 6	Morada Nova	Ceará-CE	Fazenda	Vermelho	22	2	20
CEG 7	Morada Nova	Ceará-CE	Fazenda	Vermelho	26	6	20
CEH 8	Morada Nova	Ceará-CE	Fazenda	Vermelho	21	1	20
CEI 9	Morada Nova	Ceará-CE	Fazenda	Vermelho	13	1	12
CEJ 10	Morada Nova	Ceará-CE	Fazenda	Vermelho	18	2	16
CEK 11	Icó	Ceará-CE	Fazenda	Vermelho	25	5	20
CEL 12	Pentecoste	Ceará-CE	Fazenda	Vermelho	18	1	17
CEM 13	Sobral	Ceará-CE	Embrapa Caprinos	Vermelho	20	-	20
CEN 14	Quixadá	Ceará-CE	Fazenda	Branco	25	3	22
PBA 15	Patos	Paraíba-PB	Fazenda	Vermelho	26	5	21
PBB 16	Algodão de Jandaíra	Paraíba-PB	Fazenda	Vermelho	15	1	14
PBC 17	Mogeiro	Paraíba-PB	Fazenda	Vermelho	23	4	19
PBD 18	São João do Cariri	Paraíba-PB	Fazenda	Vermelho	17	2	15
PBE 19	São João do Cariri	Paraíba-PB	Estação experimental	Vermelho	22	2	20
PBF 20	Taperoá	Paraíba-PB	Fazenda	Vermelho	23	3	20
PBG 21	Taperoá	Paraíba-PB	Fazenda	Vermelho	22	2	20
PBH 22	Mogeiro	Paraíba-PB	Fazenda	Branco	35	4	31
PEA 23	Pedra	Pernambuco-PE	Fazenda	Vermelho	23	1	22
PEB 24	Serra Talhada	Pernambuco-PE	IPA	Vermelho	25	5	20
PEC 25	São José do Egito	Pernambuco-PE	Fazenda	Vermelho	22	2	20
RNA 26	Angicos	Rio Grande do Norte-RN	Fazenda	Vermelho	20	-	20
RNB 27	Lages	Rio Grande do Norte-RN	Fazenda	Vermelho	22	2	20
RNC 28	Pedro Avelino	Rio Grande do Norte-RN	EMPARN	Vermelho	25	5	20
RND 29	Parazinho	Rio Grande do Norte-RN	Fazenda	Vermelho	18	1	17
RNE 30	Lages	Rio Grande do Norte-RN	Fazenda	Vermelho	23	3	20
RNF 31	Lagoa de Velhos	Rio Grande do Norte-RN	Fazenda	Vermelho	13	-	13
RNG 32	Ouro Branco	Rio Grande do Norte-RN	Fazenda	Vermelho	30	3	27
RNH 33	Caicó	Rio Grande do Norte-RN	Fazenda	Vermelho	11	3	8
Total					717	87	630

*Emater-CE = Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Ceará; Embrapa Caprinos = Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária; Estação experimental = Estação Experimental São João do Cariri/UFPB; IPA = Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária; EMPARN - Empresa de Pesquisa Agropecuária do RN.

com pelagem branca e as demais populações possuíam pelagem vermelha. Os dados foram coletados no período de janeiro de 2009 a maio de 2010.

Os rebanhos coletados nos Estados da Paraíba, Pernambuco e Rio Grande do Norte, representam 100% das fazendas que criam ovinos da raça Morada Nova nessas regiões. No Estado do Ceará não foram realizadas coletas de dados de todos os rebanhos existentes, pois o número efetivo de ovinos Morada Nova, bem como o número de fazendas criadoras da raça é bem maior. No entanto, os rebanhos amostrados no Estado do Ceará são bem representativos da raça, uma vez que, foram feitas medidas zoométricas em animais principalmente da cidade de Morada Nova, local onde se originou a raça e também das regiões próximas.

Foram avaliados 717 animais, sendo 630 fêmeas e 87 machos. Em cada propriedade foram mensurados em média 20 animais adultos segundo recomendação da FAO, nos quais foram realizadas catorze medidas zoométricas para caracterização dos rebanhos quanto ao padrão morfoestrutural (Figura 2): longitude da cabeça ou comprimento da cabeça (LCb), longitude do rosto (LR), largura da cabeça (LC), comprimento do corpo (CC), perímetro torácico (PT), altura da cernelha (AC), altura da garupa (AG), largura da garupa (LG), longitude da garupa (LoG), perímetro da canela anterior (PM), perímetro da canela posterior (PC), comprimento de orelha (CO), largura da orelha (LO) e perímetro escrotal (PES). Para realização das medidas foram utilizadas fita métrica e trena (comprimentos, larguras e perímetros) e bastão zoométrico (comprimentos e alturas), com o animal mantido em posição correta de aprumos.

A longitude da cabeça ou comprimento da cabeça foi dada pela distância desde o occipital até o lábio inferior. A longitude do rosto foi medida entre a linha imaginária que une o ângulo interno dos olhos e o ponto mais rostral da parte nasal. A largura da cabeça foi realizada pela medida entre os arcos zigomáticos. O tamanho da orelha foi medido da base da orelha até a ponta final (externa) e a largura da orelha entre os lobos mais distantes. O comprimento do corpo foi dado pela distância entre a parte cranial da tuberosidade maior do úmero até a parte caudal da tuberosidade isquiática. O perímetro torácico foi medido pela circunferência externa da cavidade torácica. A altura da cernelha foi medida entre o ponto mais alto da região interescapular e o solo e, a altura da garupa, entre a tuberosidade sacral do ílio e o solo. A largura da garupa foi medida entre as duas porções laterais das asas dos ílios e, a longitude da garupa entre a parte

cranial da tuberosidade ilíaca e a parte caudal da tuberosidade isquiática. O perímetro da canela anterior foi dado pela medida do terço médio da região metacarpiana do membro anterior esquerdo e o perímetro da canela posterior medido do terço médio da região metacarpiana do membro posterior esquerdo. O perímetro escrotal foi o perímetro da bolsa escrotal (Cabral, 2004; Costa Júnior et al., 2004; Ribeiro 1988).

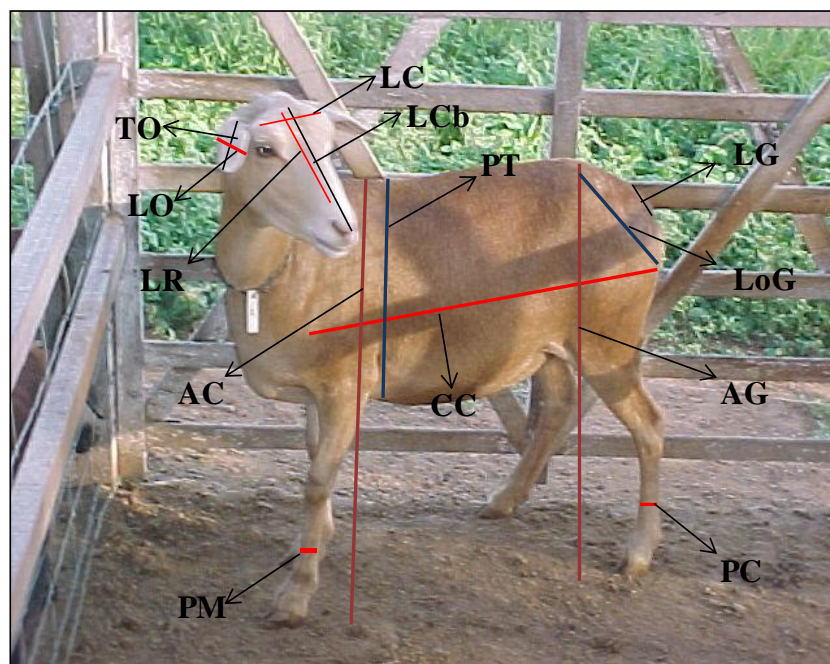


Figura 2. Representação dos locais de tomada das medidas zoométricas.

Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de médias (Tukey 5% de probabilidade) com auxílio do SAS versão 9.2 (2008) para avaliar o efeito do sexo e estado da federação sobre as características zoométricas estudadas. Como houve diferenças entre Estados, foi feita uma análise multivariada, considerando as 33 populações, utilizando a técnica de componentes principais. O critério do número de variáveis descartadas foi conforme recomendações de Jolliffe (1973), com a análise de componentes principais a partir da matriz de correlação. Este critério estabelece que o número de variáveis descartadas deve ser igual ao número de componentes cuja variância (autovalor) é inferior a 0,7.

Após a determinação do número de componentes principais, foram estimados os escores para cada componente principal, os quais foram utilizados para a análise de agrupamento (*cluster*), utilizando o método de Tocher (Cruz e Regazzi, 2001), com base na distância Euclidiana média padronizada.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base no histórico da formação dos rebanhos manteve-se a análise estatística por Estado. Dessa forma, as médias por Estado, média geral, desvios-padrão (DP), coeficientes de variação (CV) e nível de significância (P) das medidas zoométricas de machos adultos da raça Morada Nova, encontram-se na Tabela 2. O coeficiente de variação apresentado foi abaixo de 10% para quase todas as variáveis, com exceção da largura da cabeça e largura da garupa, de acordo com Rodero et. al. (2009) isso indica a precisão na coleta de dados bem como a uniformidade das variáveis.

Tabela 2. Médias, desvios-padrão (DP), coeficientes de variação (CV) e nível de significância (P) para as características zoométricas de ovinos da raça Morada Nova em machos adultos por Estados

Variáveis (cm)	Estados				Média ± DP	CV (%)	P
	CE	RN	PB	PE			
LCb	20,42a	20,85a	20,36a	20,44a	20,49 ± 1,08	5,28	ns
LR	14,04b	14,88ab	14,57ab	15,50a	14,49 ± 1,32	9,08	*
LC	10,35ab	9,47b	9,36b	11,37a	10,01 ± 1,42	14,15	*
CO	9,46a	9,59a	9,31a	9,13a	9,41 ± 0,90	9,61	ns
LO	5,43a	5,32a	5,36a	5,19a	5,36 ± 0,48	8,97	ns
CC	68,97a	66,76a	66,21a	67,81a	67,69 ± 3,70	5,47	ns
PT	86,50a	86,12a	84,67a	85,94a	85,90 ± 5,12	5,96	ns
AC	66,96a	65,15a	66,83a	65,50a	66,41 ± 3,42	5,16	ns
AG	66,93a	64,56a	65,98a	64,81a	65,99 ± 3,28	4,98	ns
LG	13,05a	12,03a	11,95a	11,81a	12,44 ± 1,57	12,61	ns
LoG	14,96a	14,29a	14,28a	14,37a	14,59 ± 1,25	8,58	ns
PM	7,96a	8,29a	8,26a	8,19a	8,13 ± 0,62	7,63	ns
PC	9,07a	9,26a	9,45a	9,31a	9,23 ± 0,76	8,28	ns
PES	30,14a	28,82a	29,83a	29,00a	29,68 ± 2,43	8,19	ns

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey a 5%; Probabilidade: *significativo a 5% ($< 0,05$); ns = não significativo.

CE: Ceará, RN: Rio Grande do Norte; PB: Paraíba; PE: Pernambuco.

LCb= longitude da cabeça; LR= longitude do rosto; LC= largura da cabeça; CO= comprimento da orelha; LO= largura da orelha; CC= comprimento do corpo; PT= perímetro torácico; AC= altura da cernelha; AG= altura da garupa; LG= largura da garupa; LoG=longitude da garupa; PM= perímetro da canela anterior; PC=perímetro da canela posterior; PES = perímetro escrotal.

Para as variáveis LR e LC houve diferença estatística ($P < 0,05$), nos machos avaliados, onde os animais criados no Estado de Pernambuco apresentaram médias superiores aos criados no Estado do Ceará (14,04 cm) com relação a LR (15,5 cm) e, com relação a LC os animais criados no Estado de Pernambuco apresentaram médias superiores (11,37 cm) aos criados nos Estados do Rio Grande do Norte (9,47 cm) e da Paraíba (9,36 cm). Embora não tenha nenhum elemento que sirva de indicativo produtivo do animal, é na cabeça do animal onde se encontra o maior número de regiões

que apresentam variação em conformação, posição, tamanho e inserção, sendo suficientes para a caracterização racial do indivíduo (Peixoto, 1990). Para as demais variáveis não foi observado efeito significativo, provavelmente pelo reduzido número de machos avaliados. Isso ocorre porque nas propriedades o número de machos adultos normalmente é de um ou dois animais, que são utilizados como reprodutores.

Os valores médios das medidas zoométricas, para os machos, obtidos neste trabalho para CC e PT foram superiores aos descritos por Silva et al. (2007), com ovinos machos da raça Morada Nova na região semiárida do Estado de Alagoas. Estes autores relataram valores similares para AC (67,0 cm) e superiores para AG (68,0 cm). O comprimento do corpo é uma medida que se relaciona com a altura e peso do animal mantém relação com a conformação corporal, indicando animal do tipo longilíneo ou compacto (Vargas Júnior et al., 2011). Já o perímetro torácico é uma medida que representa de forma indireta a capacidade respiratória e a capacidade de ingestão de alimentos estando associadas a um bom desempenho.

Para todas as variáveis estudadas os machos apresentaram medidas superiores às fêmeas. Esse fenômeno é conhecido como dimorfismo sexual, em que os machos se apresentam superiores às fêmeas. É um fenômeno comum na maioria das raças e espécies, conforme explica Álvares (2000), em estudo realizado com ovelhas da raça Canária.

Na Tabela 3 pode-se observar que das treze variáveis estudadas nas fêmeas, onze medidas apresentaram um coeficiente de variação menor ou igual a 9%, indicando dessa forma a coerência de realização dessas medidas, uma vez que essas variáveis são realizadas a campo.

Como descrito por Silva et al. (2007), que trabalharam com fêmeas ovinas da raça Morada Nova na região semiárida do Estado de Alagoas, os valores médios para CC (62,5 cm) e PT (78,5 cm) corroboram com os dados encontrados nesse estudo e obtiveram valores superiores para AC (66,0 cm) e AG (68,5 cm).

Houve efeito significativo ($P < 0,05$) entre os rebanhos avaliados para quase todas as variáveis, com exceção da LO, CC e PT, que não diferiram significativamente ($P > 0,05$) entre os rebanhos. De acordo com McManus et al. (2008), o CC e o PT são variáveis utilizadas em estudos de índice corporal, uma vez que na espécie ovina existe grande variação no tamanho do corpo entre animais da mesma raça ou raças diferentes

Tabela 3. Médias, desvios-padrão (DP), coeficientes de variação (CV) e nível de significância (P) para as características zoométricas de ovinos da raça Morada Nova em fêmeas adultas por Estados

Variáveis (cm)	Estados				Média ± DP	CV (%)	P
	CE	RN	PB	PE			
LCb	18,85b	19,30a	19,27a	18,89b	19,06 ± 0,79	4,15	*
LR	13,22c	13,88b	13,67b	14,47a	13,62 ± 1,05	7,74	*
LC	9,06b	8,37c	8,93b	10,08a	8,97 ± 1,29	14,37	*
CO	9,47b	9,96a	9,69ab	9,78a	9,67 ± 0,85	8,83	*
LO	5,35a	5,39a	5,32a	5,40a	5,36 ± 0,51	9,58	ns
CC	61,99a	61,60a	62,56a	62,68a	62,09 ± 3,21	5,17	ns
PT	76,41a	78,02a	77,53a	76,97a	77,13 ± 5,01	6,50	ns
AC	61,54a	60,37b	61,43a	59,71b	61,02 ± 3,12	5,11	*
AG	61,74a	60,35b	61,60a	60,00b	61,17 ± 3,00	4,90	*
LG	12,60a	12,07b	11,65bc	11,51c	12,14 ± 1,51	12,44	*
LoG	14,49a	13,74b	13,64b	14,06ab	14,06 ± 1,28	9,08	*
PM	6,79b	7,30a	7,22a	6,91b	7,03 ± 0,53	7,55	*
PC	7,77b	8,29a	8,31a	7,89b	8,04 ± 0,62	7,67	*

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente ($P < 0,05$) pelo teste de

Tukey a 5%; Probabilidade: *significativo a 5% ($< 0,05$); ns = não significativo.

CE: Ceará, RN: Rio Grande do Norte; PB: Paraíba; PE: Pernambuco.

LCb= longitude da cabeça; LR= longitude do rosto; LC= largura da cabeça; CO= comprimento da orelha; LO= largura da orelha; CC= comprimento do corpo; PT= perímetro torácico; AC= altura da cernelha; AG= altura da garupa; LG= largura da garupa; LoG=longitude da garupa; PM= perímetro da canela anterior; PC=perímetro da canela posterior.

(Pacheco & Quirino, 2008), sendo esta diversidade um instrumento na melhoria da produção animal.

Os rebanhos do Estado do CE apresentaram médias superiores, quando comparados aos rebanhos do RN, PB e PE para LG (12,6 cm) e LoG (14,49 cm), sendo interessante verificar posteriormente a questão relacionada à facilidade do parto nesses animais.

Assim como foi observado nos machos no presente estudo, as fêmeas pertencentes aos rebanhos do Estado de PE diferiram estatisticamente ($P < 0,05$) dos demais Estados, apresentando médias superiores, quando comparados aos outros rebanhos para LR (14,47 cm) e LC (10,08 cm).

É possível notar nas fêmeas estudadas a existência de uma variação das medidas entre as populações, uma vez que quase todas as variáveis apresentaram diferença estatística ($P < 0,05$). Apesar disso, as variáveis LCb, LR, CO, LO, CC, PT, LG, LoG, PM e PC não variaram estatisticamente ($P > 0,05$) entre os Estados do RN e PB, ou seja, das 13 medidas zoométricas estudadas, 10 medidas apresentaram resultados semelhantes para os rebanhos pertencentes a esses dois Estados, sugerindo uma maior uniformidade e proximidade entre esses rebanhos, quando comparados aos rebanhos dos Estados do CE e PE. Tal proximidade entre os rebanhos dos Estados da Paraíba e Rio

Grande do Norte pode ser explicada pela origem dos animais fundadores desses rebanhos, pois os animais provenientes do Estado da PB e do CE contribuíram para a formação dos rebanhos do RN e os animais oriundos do Estado do RN e do CE contribuíram para a formação dos rebanhos da PB. É importante destacar que todos os animais que fundaram os rebanhos desses Estados foram provenientes a princípio do Estado do Ceará, porém uma vez esses animais no Estado da PB e do RN agruparam-se dessa forma. A formação dos rebanhos do Estado de PE também teve grande contribuição dos animais fundadores provenientes do CE. Há uma importante participação dos animais do Estado do Ceará na formação de todos os rebanhos, visto que o maior efetivo de animais da raça Morada Nova encontra-se no Estado do CE, como também a origem da raça se deu nessa região.

Como houve efeito significativo ($P < 0,05$) para quase todas as variáveis estudadas, de acordo com os Estados avaliados, realizou-se análise de componentes principais considerando as 33 populações, a fim de obter resultados mais detalhados do comportamento zoométrico desses animais de acordo com os rebanhos investigados. Dessa forma, são apresentados, na Tabela 4, os resultados obtidos para os componentes principais, em função das 14 medidas zoométricas de machos adultos da raça Morada Nova nas 33 populações avaliadas.

Tabela 4. Autovalores e percentuais de variâncias explicadas pelos componentes principais das medidas zoométricas de ovinos da raça Morada Nova em machos adultos, de acordo com as populações avaliadas

Componente principal	Variância (Autovalor)	Proporção de variação	Variância acumulada (%)
CP1	5,28297585	0,3774	37,74
CP2	2,61288299	0,1866	56,40
CP3	1,59387689	0,1138	67,78
CP4	1,09490910	0,0782	75,60
CP5	0,69103125	0,0494	80,54
CP6	0,61715699	0,0441	84,95
CP7	0,49408712	0,0353	88,48
CP8	0,38372543	0,0274	91,22
CP9	0,32745721	0,0234	93,56
CP10	0,25308883	0,0181	95,37
CP11	0,23142172	0,0165	97,02
CP12	0,15918528	0,0114	98,16
CP13	0,13852464	0,0099	99,15
CP14	0,11967669	0,0085	100

Foram necessários quatro componentes principais para explicar um percentual mínimo de 75,60% da variação total existente nas medidas zoométricas. Observa-se que o primeiro componente pode explicar 37,74% da variação total, enquanto o segundo componente explica 18,66% da variação.

Dos 14 componentes principais, 10 (71,43%) apresentaram variância inferior a 0,7 (autovalor inferior a 0,7). Dessa forma, essas características podem ser descartadas de acordo com o critério de Jolliffe (1973). Assim, as dez variáveis que apresentaram maiores coeficientes em valor absoluto, a partir do último componente principal (AG, PM, LR, CO, CC, PT, LCb e PES), são passíveis de descarte, conforme apresentado na Tabela 5. Nos componentes principais 8 (AC) e 5 (LO) não foram eliminadas nenhuma variável, uma vez que as características CC e AG, respectivamente, já haviam sido eliminadas anteriormente.

Tabela 5. Coeficiente de Ponderação das variáveis com dez componentes principais menos importantes para explicar a variação total das medidas zoométricas de ovinos da raça Morada Nova em machos adultos, de acordo com as populações avaliadas

Variáveis	Coeficientes									
	CP14	CP13	CP12	CP11	CP10	CP9	CP8	CP7	CP6	CP5
LCb	0,207	0,277	-0,359	0,291	0,077	0,163	0,118	0,467	-0,216	-0,092
LR	-0,240	-0,192	0,609	0,078	-0,244	-0,031	-0,076	0,129	0,236	0,168
LC	-0,026	0,215	-0,034	0,024	0,419	0,094	0,278	-0,321	0,287	0,450
CO	0,170	-0,174	-0,015	-0,579	0,052	0,056	0,247	0,364	-0,032	0,058
LO	-0,001	0,077	-0,010	0,435	-0,272	0,356	-0,236	-0,269	-0,170	-0,052
CC	0,113	-0,170	-0,182	-0,042	-0,517	-0,053	0,559	-0,369	-0,079	0,087
PT	-0,058	-0,004	-0,175	-0,439	0,047	0,536	-0,455	-0,179	0,124	0,031
AC	0,496	-0,370	0,120	0,150	0,269	-0,180	-0,109	-0,112	0,253	-0,467
AG	-0,593	0,338	-0,074	-0,135	-0,041	-0,265	0,067	0,037	0,109	-0,487
LG	-0,079	-0,031	0,487	0,051	0,197	0,271	0,171	0,174	-0,522	0,051
LoG	0,041	-0,116	-0,212	-0,018	-0,222	-0,451	-0,446	0,195	-0,172	0,444
PM	0,278	0,522	0,258	-0,138	0,171	-0,371	-0,126	-0,291	-0,245	0,098
PC	-0,400	-0,421	-0,253	0,247	0,464	-0,144	0,032	-0,065	-0,122	0,169
PES	0,096	0,244	0,038	0,255	-0,068	0,066	0,069	0,343	0,556	0,228

LCb= longitude da cabeça; LR= longitude do rosto; LC= largura da cabeça; CO= comprimento da orelha; LO= largura da orelha; CC= comprimento do corpo; PT= perímetro torácico; AC= altura da cernelha; AG= altura da garupa; LG= largura da garupa; LoG=longitude da garupa; PM= perímetro da canela anterior; PC=perímetro da canela posterior; PES= perímetro escrotal.

Com base nestes resultados, recomendam-se as seguintes variáveis zoométricas para serem mantidas, em experimentos futuros, com machos ovinos da raça Morada Nova: LC, LO, AC, LG, LoG e PC.

Pela análise de componentes principais realizada para as fêmeas nos 33 rebanhos com base em 13 medidas zoométricas, foram necessários quatro componentes principais para explicar um percentual mínimo de 72,74% da variação total existente (Tabela 6). O

primeiro componente explica 34,47% da variação total, enquanto o segundo componente explica 20,05% da variação.

Tabela 6. Autovalores e percentuais de variâncias explicadas pelos componentes principais das medidas zoométricas de ovinos da raça Morada Nova em fêmeas adultas, de acordo com as populações avaliadas

Componente principal	Variância (Autovalor)	Proporção de variação	Variância acumulada (%)
CP1	4,48051899	0,3447	34,47
CP2	2,60603565	0,2005	54,51
CP3	1,39617636	0,1074	65,25
CP4	0,97338088	0,0749	72,74
CP5	0,86487262	0,0665	79,39
CP6	0,60054513	0,0462	84,01
CP7	0,48390229	0,0372	87,73
CP8	0,41915273	0,0322	90,96
CP9	0,32436664	0,0250	93,45
CP10	0,29733942	0,0229	95,74
CP11	0,25032939	0,0193	97,67
CP12	0,15851969	0,0122	98,89
CP13	0,14486023	0,0111	100

Dos 13 componentes principais, 8 (61,54%) apresentaram variância inferior a 0,7 (autovalor inferior a 0,7). Dessa forma, as 8 variáveis sugeridas para descarte, que apresentaram maiores coeficientes em valor absoluto, a partir do último componente principal e que são passíveis de descarte, em ordem de menor importância para explicar a variação total, são apresentadas na Tabela 7. Assim, as variáveis sugeridas para descarte foram, respectivamente, em ordem de menor importância: AC, PM, LR, LoG, PT, CC e LcB.

No componente principal 8 (AC) não foi eliminado nenhuma variável, uma vez que a característica PT havia sido eliminada anteriormente. Com base nestes resultados, recomendam-se as seguintes variáveis zoométricas para serem mantidas, em experimentos futuros, com fêmeas ovinas da raça Morada Nova: LC, CO, LO, AG, LG e PC.

A altura da cernelha e longitude da garupa foram consideradas medidas importantes apenas para os machos, enquanto o comprimento da orelha e a altura da garupa foram medidas consideradas importantes apenas para as fêmeas. As medidas consideradas importantes para ambos os sexos foram a largura da cabeça, largura da orelha, largura da garupa e perímetro da canela.

Tabela 7. Coeficiente de Ponderação das variáveis com oito componentes principais menos importantes para explicar a variação total das medidas zoométricas de ovinos da raça Morada Nova em fêmeas adultas, de acordo com as populações avaliadas

Variáveis	Coeficientes							
	CP13	CP12	CP11	CP10	CP9	CP8	CP7	CP6
LCb	-0,032	-0,004	-0,596	0,041	0,144	0,205	0,158	-0,589
LR	0,011	-0,024	0,649	-0,067	0,277	0,021	-0,074	-0,179
LC	0,068	0,014	-0,221	0,293	-0,231	0,189	-0,091	0,434
CO	0,071	-0,012	-0,006	-0,455	-0,375	0,310	-0,098	-0,022
LO	0,002	0,017	-0,017	0,491	0,317	-0,400	0,018	-0,037
CC	-0,065	0,043	-0,098	-0,055	-0,007	-0,139	-0,876	0,009
PT	0,027	-0,025	0,089	-0,139	-0,556	-0,570	0,301	-0,079
AC	0,697	0,062	0,019	0,033	0,096	-0,024	0,075	0,102
AG	-0,693	-0,072	0,090	0,106	-0,053	0,060	0,122	0,111
LG	0,077	-0,028	0,378	0,271	-0,163	0,464	0,001	-0,356
LoG	-0,075	0,033	-0,055	-0,580	0,497	-0,033	0,153	0,163
PM	-0,060	0,706	0,031	0,092	0,039	0,237	0,184	0,329
PC	0,061	-0,698	-0,028	0,076	0,103	0,210	0,124	0,374

LCb= longitude da cabeça; LR= longitude do rosto; LC= largura da cabeça; CO= comprimento da orelha; LO= largura da orelha; CC= comprimento do corpo; PT= perímetro torácico; AC= altura da cernelha; AG= altura da garupa; LG= largura da garupa; LoG=longitude da garupa; PM= perímetro da canela anterior; PC=perímetro da canela posterior.

Utilizando os autovetores dos componentes principais calculados para as medidas zoométricas de ovinos da raça Morada Nova dos diferentes rebanhos analisados, foram montadas as Figuras 3 e 4, que agrupam os rebanhos de acordo com a distância euclidiana obtida com base nas correlações entre as variáveis estudadas.

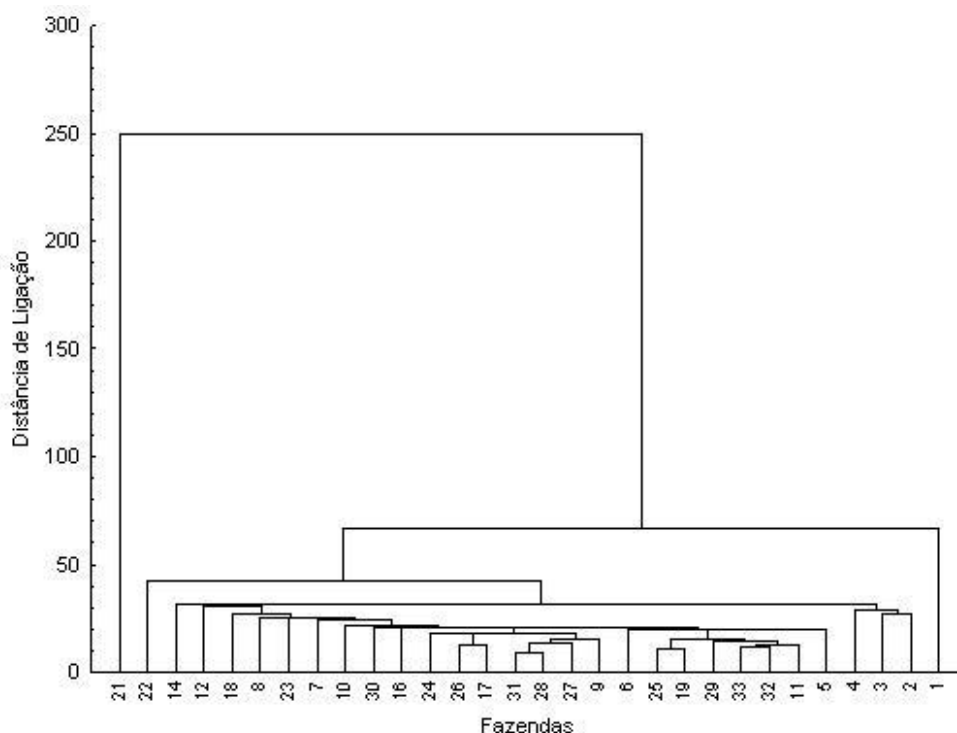


Figura 3. Agrupamento das 33 populações da raça Morada Nova, de acordo com as medidas zoométricas dos machos estudados.

É possível observar a formação de subgrupos, tanto nos machos (Figura 3, 5 subgrupos), quanto nas fêmeas (Figura 4, 7 subgrupos).

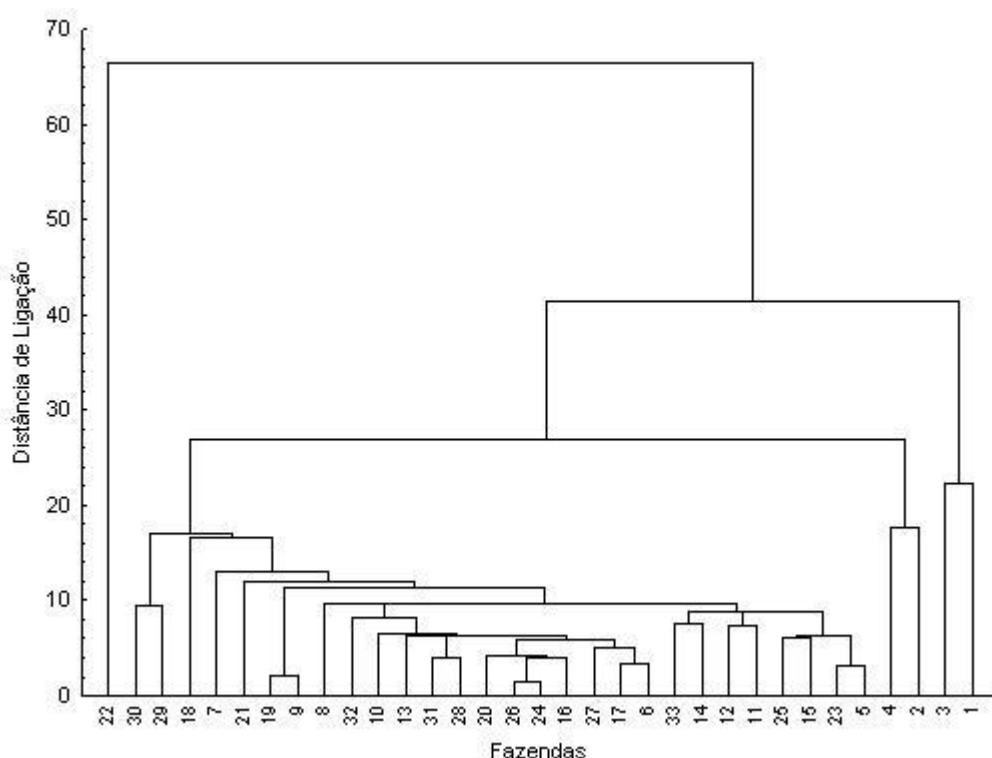


Figura 4. Agrupamentos das 33 populações da raça Morada Nova, de acordo com as medidas zoométricas das fêmeas estudadas.

O menor número na formação de subgrupos quando avaliados os machos se deve ao fato do efetivo de reprodutores ser bem menor em todas as fazendas analisadas, não acontecendo o mesmo comportamento para as fêmeas que representam o maior número dentro de todos os rebanhos. Pode-se ainda considerar a origem desses animais que, dependendo da população, são animais advindos do mesmo rebanho de origem. É possível observar também nestas figuras que, apesar da formação dos subgrupos, a raça Morada Nova dentro destas populações estudadas apresenta uma proximidade no que diz respeito às características zoométricas, demonstrando assim um padrão racial definido para esses animais na região Nordeste do Brasil.

CONCLUSÕES

A análise de agrupamento, através das medidas zoométricas estudadas, mostrou que foram determinados subgrupos da raça Morada Nova na região Nordeste do Brasil.

Das 14 medidas avaliadas a análise mostrou que a largura da cabeça, largura da orelha, largura da garupa e perímetro da canela, foram medidas consideradas importantes para ambos os sexos, enquanto a altura da cernelha e longitude da garupa foram medidas consideradas importantes apenas para os machos e, o comprimento da orelha e a altura da garupa foram medidas consideradas importantes apenas para as fêmeas.

A análise de componentes principais foi eficiente na redução do número de medidas necessárias para a avaliação zoométrica de machos e fêmeas da raça Morada Nova nas diferentes populações estudadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ÁLVAREZ, S.; FRESNO, M.; CAPOTE, J.V.; et al. Estudio para la caracterización de la raza ovina Canaria. **Archivos de Zootecnia**, v.49, p.209-215, 2000.
- CABRAL, G.C.; ALMEIDA, F.Q.; AZEVEDO, P.C.N.; et al. Avaliação Morfométrica de Equinos da Raça Mangalarga Marchador: Medidas Angulares. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6, suplemento11, p.1-9, 2004.
- COSTA JÚNIOR, G.S.; CAMPELO, J.E.G.; AZEVÊDO, D.M.M.R.; et al. Caracterização Morfométrica de Ovinos da Raça Santa Inês Criados nas Microrregiões de Teresina e Campo Maior, Piauí. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.6, p.2260-2267, 2006.
- CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2. ed. rev. Viçosa, Editora UFV, 390 p. 2001.
- IBGE – **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística** 2010. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default>. Acesso em: 25 de novembro de 2010.
- JOLLIFFE, I.T. **Discarding variables in a principal component analysis**. II. Real data. *Applied Statistics*, v.22, n.6, p.21-31, 1973.
- KOTAIT, I.; CARRIERI, M.L.; CARNIELI, J.R.P.; CASTILHO, J.G.; OLIVEIRA, R.N.; MACEDO, C.I.; FERREIRA, K.C.S. & ACHKAR, S.M. Reservatórios silvestres do vírus da raiva: um desafio para a saúde pública. **Boletim de Epidemiologia Paulista**, v.4(40), p.1-10, 2007.
- MACHADO, T.M.M.; CHAKIR, M.; LAUVERGNE, J.J. Genetic distance and taxonomic trees between goats of Ceará State (Brazil) and goats of the Mediterranean region (Europe and Africa). **Genetics and Molecular Biology**, v.23, n.1. p.121-125. 2000.
- MCMANUS, C.M.; SANTOS, A.S.; SILVA, J.A.; LOUVANDINI, H.; ABREU, U.G.P.; SERENO, J.R.B.; MARIANTE, A.S. Body indices for the Pantaneiro horse. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, São Paulo, v.45, n.5, p.362-370, 2008.
- MONTEIRO, L.S. A experimentação e a experiência. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.117, p.1-16, 2002.
- PACHECO, A.; QUIRINO, C.R. Estudo das características de crescimento em ovinos. **Pubvet**. 2008. Disponível em: http://www.pubvet.com.br/artigos_det.asp/artigo=293/>. Acesso em 01 novembro 2011.
- PEIXOTO, A.M.; LIMA, F.P.; TOSI, H. et al. **Exterior e julgamento de bovinos**. Ed. FEALQ-Piracicaba-SP, 222 p. 1990.
- RIBEIRO, D.B. **O Cavalo: Raças, Qualidades e Defeitos**. Ed. Globo-Rio de Janeiro-RJ, 318 p. 1988.

RODERO, A.F.Y. **Darwin se Hizo Granjero: Aportaciones de la cría de animales domésticos a la teoría Darwiniana.** (S.L.): Servicios de Publicaciones. UCO, 11p. 2009.

SAS (Statistical Analysis System). **SAS Institute Inc**, Cary, NC, USA. version 9.2. 2008.

SILVA, N.V.; FRAGA, A.B.; ARAÚJO FILHO, J.T.; CAVALCANTI NETO, C.C.; SILVA, F.L.; COSTA, P.P.S.; LIRA JÚNIOR, W.B. Caracterização Morfométrica de Ovinos deslanados Cabugi e Morada Nova. **Rev. Cient. Prod. Anim.** v.9, n.1, 2007.

TRAORÉ, A.; TAMBOURA, H.H.; KABORÉ, A.; et al. Multivariate characterization of morphological traits in Burkina Faso sheep. **Small Ruminant Research**, v.80, p.62-67, 2008.

VARGAS JUNIOR, F.M.; MARTINS, C.F.; SOUZA, C.C.; PINTO, G.S.; PEREIRA, H.F.; CAMILO, F.R.; AZEVEDO, N.P. Avaliação Biométrica de Cordeiros Pantaneiros. **Revista Agrarian** - Dourados, v.4, n.11, p.60-65, 2011.

CAPITULO II

Caracterização Genética de Ovinos Morada Nova

CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DE OVINOS MORADA NOVA

RESUMO

Objetivou-se com este trabalho caracterizar geneticamente a raça Morada Nova nos Estados de Ceará, Paraíba, Pernambuco e Rio Grande do Norte, utilizando 23 marcadores de microssatélites. Foram coletadas amostras de pelos de ovinos Morada Nova de trinta e duas populações nos Estados do Ceará, Paraíba, Pernambuco e Rio Grande do Norte, localizados na região semiárida do Nordeste brasileiro. Um total de 470 animais foram analisados. A Análise de Variância Molecular (AMOVA) mostrou que 7,65% do total de variação observado ($P < 0,001$) foram devido a diferenças entre populações e 92,35% devido a diferenças intrapopulacionais. Através da análise bayesiana obtida com o Structure, foi estimado o melhor K (3 e 5) para definição do número provável de populações. A análise de componentes principais mostrou que os dois primeiros componentes foram responsáveis por mais de 45% de toda variação observada entre as populações. Os resultados obtidos sugerem a existência de subestruturação das populações da raça, mostrando que há variabilidade genética entre as populações e dentro das populações, sendo maior a diversidade dentro que entre populações. A população RNG, localizada no Estado do Rio Grande do Norte, é distante geneticamente das demais populações de ovinos Morada Nova, tornando-se rebanho referência para a conservação da raça e para futuros estudos sobre sua diversidade genética. As variedades da raça Morada Nova com pelagem vermelha e pelagem branca são geneticamente distintas, dessa forma recomenda-se futuros estudos para uma avaliação mais detalhada.

Palavras-chave: Conservação Genética, Microssatélites, Recursos Genéticos Animais

GENETIC CHARACTERIZATION OF MORADA NOVA BREED OF SHEEP

ABSTRACT

The aim of the present study was to offer a genetic characterization of herds of the Morada Nova breed of sheep in four states in northeastern Brazil through an analysis of 23 microsatellite markers. Fleece samples were collected from 33 herds in semi-arid regions of the states of Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba and Pernambuco. A total of 470 animals were analyzed. Analysis of molecular variance (AMOVA) demonstrated that 7.65% of the variation observed ($p < 0.001$) was due to differences between populations and 92.35% was due to differences within populations. Bayesian analysis using the Structure program was employed to estimate the best K value (3 and 5) for the definition of the probable number of populations. Principal component analysis revealed that the two first components accounted for more than 45% of the variation observed between populations. The results suggest sub-structuring of the populations, with genetic variability both between and within populations. Genetic variability was greater between populations. The RNG herd located in the state of Rio Grande do Norte is genetically distant from the other populations of Morada Nova sheep, making it the reference herd for the conservation of the breed as well as for future studies on genetic diversity. The varieties of Morada Nova with reddish fleece are genetically distant from those with white fleece. Further studies are needed for a more detailed evaluation.

Keywords: genetic conservation, microsatellites, animal genetic resources

INTRODUÇÃO

Os ovinos da região Nordeste brasileira foram trazidos pelos portugueses e espanhóis no tempo da colonização. Contudo, a introdução desses animais ocorreu nas mais diferentes regiões do país de forma que, com tempo, características peculiares foram fixadas nas populações de ovinos sobreviventes em cada região.

De acordo com Mariante et al. (2009), estes grupos altamente adaptados passaram a ser conhecidos como raças crioulas, locais ou naturalizadas, as quais podem apresentar vantagens em regimes de produção extensiva, quando comparadas com raças recém-chegadas a determinada região ou ao país.

A raça Morada Nova pode ser caracterizada como uma raça com grande rusticidade e adaptação a regiões semiáridas. Sabe-se haver uma predominância de genótipos lanados nas regiões Sul e Sudeste, enquanto nas regiões Norte e Nordeste predominam os genótipos deslanados (Facó et al., 2008).

A seleção destes animais deve ser levada em consideração nos programas de conservação como uma estratégia segura para os programas de melhoramento da raça, que terá material genético diversificado disponível para indústria de produção animal. No entanto, em razão da intensificação de cruzamentos absorventes indiscriminados com raças exóticas ou ditas “modernas” importadas a partir do final do século XIX e início do século XX, a raça Morada Nova se encontra sob forte ameaça de extinção, possivelmente, devido ao número limitado de parentes encontrados nos rebanhos atuais que contribui para o aumento da consangüinidade intrapopulacional proveniente do “efeito fundador” (Meszaros et al., 1998) e, conseqüentemente, redução da diversidade genética das populações.

Para que este importante material genético não fosse perdido, o Brasil criou um Programa de Conservação de Recursos Genéticos Animais, coordenado pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen). A conservação vem sendo realizada por diversos Centros de Pesquisa da Embrapa em parceria com Universidades, Empresas de Pesquisa Estaduais e produtores privados.

Uma forma de avaliar a diversidade genética das populações é pelo estudo da estrutura populacional com técnicas moleculares que fornece resultados úteis nos estudos de populações exploradas comercialmente. Dessa forma, uma série de estudos

genéticos foi conduzido com a espécie ovina como o uso de marcadores de DNA (Lanneluc et al., 1992), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), RFLPs (Restriction Fragment Length Polymorphism, Matthews & Crawford 1998). Os marcadores microssatélites tem sido mais largamente utilizados tanto nos testes de paternidade quanto para estimar a variabilidade genética de populações ovinas em diferentes países (Arora et al., 2008; Nahas et al., 2008; Lasagna et al., 2009; Kevorkian et al., 2010; Tapio et al., 2010; Nanekarani et al., 2011).

Atualmente, existe demanda crescente para que programas de conservação e melhoramento estejam integrados bem como que os mesmos tenham uma sólida base técnico-científica de forma a aperfeiçoar seus resultados. Desta forma, objetivou-se com este trabalho, caracterizar geneticamente os ovinos da raça Morada Nova no Nordeste brasileiro, com base em marcadores de microssatélites.

MATERIAL E MÉTODOS

Material biológico

Foram coletadas amostras de pelos de ovinos Morada Nova de trinta e duas populações nos Estados do Ceará, Paraíba, Pernambuco e Rio Grande do Norte, localizados na região semiárida do Nordeste brasileiro (Figura 1), totalizando 470 animais: 198 amostras do Estado do Ceará (14 populações), 118 da Paraíba (7 populações), 45 de Pernambuco (3 populações) e 109 do Rio Grande do Norte (8 populações) (Tabela 1). As amostras de pelos de cada ovino foram coletadas com o bulbo capilar e colocadas em envelopes identificados com informações referentes ao sexo, local de origem e número do animal, que permaneceram armazenados em temperatura ambiente até o momento da extração do DNA. As amostras foram coletadas no período de janeiro de 2009 a maio de 2010.

Os rebanhos coletados nos Estados da Paraíba, Pernambuco e Rio Grande do Norte, representam 100% das fazendas que criam ovinos da raça Morada Nova nessas regiões. No Estado do Ceará não foram realizadas coletas de pelos de todos os animais dos rebanhos existentes, pois o número efetivo de ovinos Morada Nova, bem como o

número de fazendas criadoras da raça é bem maior. No entanto, os rebanhos amostrados no Estado do Ceará são bem representativos da raça, uma vez que, foram coletados pelos em animais de rebanhos localizados principalmente na cidade de Morada Nova, local onde se originou a raça e também das regiões próximas.

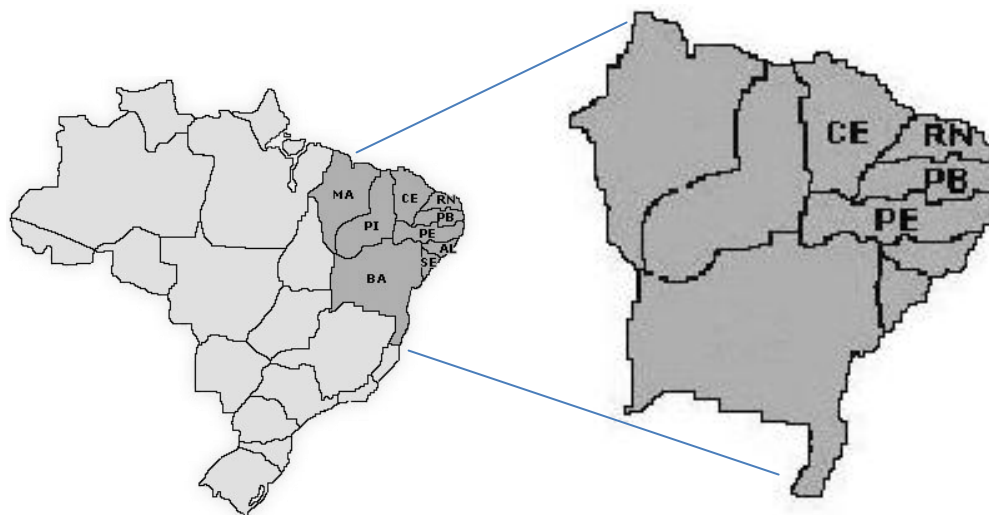


Figura 1. Mapa do Brasil (esquerda) e a região Nordeste (direita), mostrando os Estados onde foram coletadas as amostras das populações estudadas de ovinos da raça Morada Nova. CE = Estado do Ceará; RN = Estado do Rio Grande do Norte; PB = Estado da Paraíba e PE = Estado de Pernambuco.

Fonte: Kotait et al. (2007).

Extração de DNA

O DNA genômico foi extraído de 30 a 50 bulbos capilares segundo a metodologia de Boyce et al. (1989), com algumas adaptações (APÊNDICE A). Desse modo, em cada microtubo de 1,5 μL contendo os bulbos adicionaram-se 500 μL do tampão de extração com CTAB 2% (detergente catiônico brometo de cetil-trimetilamônio) e mercaptoetanol, que foram macerados com esferas metálicas (duas em cada tubo) em macerador automático de amostras por 30 segundos (Tissue Lyser® Qiagen).

Para avaliação qualitativa do DNA obtido, a integridade das amostras extraídas foi avaliada em gel de agarose (1%), corado com brometo de etídeo (0,5 mg/mL). Utilizou-se para cada amostra uma alíquota de 5 μL de DNA e 2 μL de azul de bromofenol.

Tabela 1. Origem do material biológico, variedades, número de animais e siglas das populações estudadas de ovinos da raça Morada Nova

Siglas	Cidades	Estados	Localidade*	Variedades	N	Sexo	
						M	F
CEA 1	Limoeiro do Norte	Ceará-CE	Fazenda	Vermelho	15	1	14
CEB 2	Quixeramobim	Ceará-CE	Emater-CE	Vermelho	15	2	13
CEC 3	Morada Nova	Ceará-CE	Fazenda	Vermelho	14	7	7
CED 4	Morada Nova	Ceará-CE	Fazenda	Vermelho	14	3	11
CEE 5	Morada Nova	Ceará-CE	Fazenda	Vermelho	14	5	9
CEF 6	Morada Nova	Ceará-CE	Fazenda	Vermelho	14	2	12
CEG 7	Morada Nova	Ceará-CE	Fazenda	Vermelho	14	6	8
CEH 8	Morada Nova	Ceará-CE	Fazenda	Vermelho	14	1	13
CEI 9	Morada Nova	Ceará-CE	Fazenda	Vermelho	13	1	12
CEJ 10	Morada Nova	Ceará-CE	Fazenda	Vermelho	14	2	12
CEK 11	Icó	Ceará-CE	Fazenda	Vermelho	14	5	9
CEL 12	Pentecoste	Ceará-CE	Fazenda	Vermelho	14	1	13
CEM 13	Sobral	Ceará-CE	Embrapa Caprinos	Vermelho	14	-	14
CEN 14	Quixadá	Ceará-CE	Fazenda	Branco	15	3	12
PBA 15	Patos	Paraíba-PB	Fazenda	Vermelho	14	5	9
PBB 16	Algodão de Jandaíra	Paraíba-PB	Fazenda	Vermelho	14	1	13
PBC 17	Mogeiro	Paraíba-PB	Fazenda	Vermelho	30	8	22
PBD 18	São João do Cariri	Paraíba-PB	Fazenda	Vermelho	15	2	13
PBE 19	São João do Cariri	Paraíba-PB	Estação experimental	Vermelho	15	2	13
PBF 20	Taperoá	Paraíba-PB	Fazenda	Vermelho	15	3	12
PBG 21	Taperoá	Paraíba-PB	Fazenda	Vermelho	15	2	13
PEA 22	Pedra	Pernambuco-PE	Fazenda	Vermelho	15	1	14
PEB 23	Serra Talhada	Pernambuco-PE	IPA	Vermelho	15	5	10
PEC 24	São José do Egito	Pernambuco-PE	Fazenda	Vermelho	15	2	13
RNA 25	Angicos	Rio Grande do Norte-RN	Fazenda	Vermelho	14	-	14
RNB 26	Lages	Rio Grande do Norte-RN	Fazenda	Vermelho	14	2	12
RNC 27	Pedro Avelino	Rio Grande do Norte-RN	EMPARN	Vermelho	14	5	9
RND 28	Parazinho	Rio Grande do Norte-RN	Fazenda	Vermelho	14	1	13
RNE 29	Lages	Rio Grande do Norte-RN	Fazenda	Vermelho	14	3	11
RNF 30	Lagoa de Velhos	Rio Grande do Norte-RN	Fazenda	Vermelho	13	-	13
RNG 31	Ouro Branco	Rio Grande do Norte-RN	Fazenda	Vermelho	15	2	13
RNH 32	Caicó	Rio Grande do Norte-RN	Fazenda	Vermelho	11	3	8
Total					470	86	384

*Emater-CE = Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Ceará; Embrapa Caprinos = Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária; Estação experimental = Estação Experimental São João do Cariri/UFPB; IPA = Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária; EMPARN - Empresa de Pesquisa Agropecuária do RN.

A eletroforese conduziu-se em cuba horizontal e a visualização dos tamanhos dos fragmentos foi realizada sob luz UV e fotodocumentada no Eagle Eye™ II (Stratagene). A extração do DNA, a avaliação qualitativa do DNA obtido, bem como a visualização dos fragmentos de DNA, foram realizadas no Laboratório de Genética Animal (LGA) da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

A quantificação do DNA foi realizada por espectrofotometria a 260nm (A260) e a pureza do DNA determinada pela relação A260nm/A280nm, utilizando o espectrofotômetro Nanodrop ND-1000 (Nanodrop Technologies, INC – EUA). Utilizou-se para cada amostra uma alíquota de 3 µL de DNA. Esta etapa foi conduzida no Laboratório de Biotecnologia Animal da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

Para a montagem das reações em cadeia da polimerase (PCR), o DNA genômico foi diluído para uma concentração de 3ng/µL e quantificado no gel de agarose 2% corado com brometo de etídeo e comparado com padrões de DNA do fago lambda com concentrações conhecida de 10, 20, 30, 40 e 50 ng/µL. Utilizou-se para cada amostra uma alíquota de 5 µL de DNA diluído e 2 µL de azul de bromofenol e, para o marcador, apenas 1 µL de cada concentração e a mesma quantidade de azul de bromofenol (2 µL).

Reação em cadeia da polimerase (PCR)

Inicialmente foram analisados os 31 microssatélites que fazem parte do painel recomendado pela FAO (Food and Agriculture Organization)/ISAG (*International Society of Animal Genetics*) (FAO, 2004) para o estudo de diversidade genética em ovinos. Na Tabela 2 encontram-se as informações dos 31 *loci* sobre as sequências dos *primers*, tamanho dos fragmentos, tipo de marcação fluorescente e multiplex de cada *loci* de microssatélites.

Antes de realizar as amplificações de todas as amostras, realizaram-se testes utilizando quatro amostras de DNA para controle positivo e mais um controle negativo sem DNA para padronizar a amplificação de todos os *primers*. A qualidade da amplificação foi avaliada com a visualização em gel de agarose 2% corado com brometo de etídeo, comparando com padrões de peso molecular 1 kb Plus (Invitrogen). A eletroforese conduziu-se a 120 volts por duas horas em cuba horizontal e a

visualização dos tamanhos dos fragmentos foi realizada com a foto documentação no Eagle Eye™ II (Stratagene).

As reações de PCR foram realizadas em termociclador (*Mastercycler Gradient Eppendorf, Alemanha*) e, para reduzir o número de reações, distribuiu-se os 31 pares de *primers* em dez reações tipo multiplex de acordo com o tamanho de fragmentos esperados para cada *locus* em pares de base (pb) e tipo de marcação fluorescente (6' FAM, HEX e NED).

As reações de amplificação foram montadas utilizando o kit Qiagen Master Mix (Qiagen, Alemanha) para PCR multiplex (contendo *HotstartTaq DNA Polimerase*, Tampão para PCR multiplex com $MgCl_2$, *mix* de dNTP, água *RNase-free* e *QSolution*), segundo as recomendações do fabricante, 4,5ng de DNA genômico e de 0,2 a 0,23mM de cada par de *primer* para um volume final de 7µL (os protocolos para cada multiplex encontram-se na Tabela B, APÊNDICE B).

O termociclador foi programado para iniciar em 95°C por 15 minutos para ativação da enzima *Taq DNA Polimerase*, seguido de 35 ciclos de 94°C por 30 segundos para desnaturação, 57°C para anelamento por 1 minuto e 30 segundos, extensão 72°C por 1 minuto e um passo de extensão final, após os 35 ciclos, de 72°C por 30 minutos para alongamento, finalizando em 4°C.

Dos 31 microssatélites submetidos à amplificação, seis (OarVH72, OarHH47, MAF209, OarFCB20, BM1329 e OarCP38) não apresentaram amplificação de fragmentos nas condições de PCR estabelecidas, não sendo possível padronizar esses loci.

Genotipagem

Os produtos da PCR foram submetidos a eletroforese capilar em sequenciador automático modelo *ABI Prism 3730 (Applied Biosystems)*, de acordo com as recomendações do fabricante. Os fragmentos e a declaração alélica foram identificados com o software *GeneMapper v. 4.1 (Applied Biosystems)*. O software *FlexiBin v. 2.0* (Amos et al., 2007) foi utilizado para identificação das classes alélicas. Na Tabela 2 encontram-se as variações dos fragmentos em pares de base obtidos neste estudo.

Tabela 2. Nome dos loci, sequências dos *primers*, tamanho dos fragmentos, fluorocromo e reações multiplex

Loci	Sequências dos <i>primers</i>		Tamanho (pb)	Fluorocromo	Multiplex
	Direto	Reverso			
SRCRSP9	AGA GGA TCT GGA AAT GGA ATC	GCA CTC TTT TCA GCC CTA ATG	99-135	FAM	M1
OarJMP29	GTA TAC ACG TGG ACA CCG CTT TGT AC	GAA GTG GCA AGA TTC AGA GGG GAA G	110-154	NED	
OarFCB193	TTCATCTCAGACTGGGATTCAGAAAGGC	GCTTGGAATAACCCCTCCTGCATCCC	96-136	FAM	
MAF70	CACGGAGTCACAAAGAGTCAGACC	GCAGGACTCTACGGGGCCTTTGC	124-166	NED	M2
OarAE129	AATCCAGTGTGTGAAAGACTAATCCAG	GTAGATCAAGATATAGAATATTTTCAACACC	135-165	HEX	
BM8125	CTCTATCTGTGGAAAAGGTGGG	GGGGGTAGACTTCAACATACG	110-130	FAM	
SRCRSP5	GGA CTC TAC CAA CTG AGC TAC AAG	GTT TCT TTG AAA TGA AGC TAA AGC AAT GC	130-144	NED	M3
BM1824	GAGCAAGGTGTTTTTCCAATC	CATTCTCCAAGTCTTCCTTG	180-218	HEX	
OarCP34	GCTGAACAATGTGATATGTTTCAGG	GGGACAATACTGTCTTAGATGCTGC	112-130	FAM	
SRCRSP1	TGC AAG AAG TTT TTC CAG AGC	ACC CTG GTT TCA CAA AAG G	116-148	NED	M4
OarFCB128	ATTAAAGCATCTTCTCTTATTTCCTCGC	CAGCTGAGCAACTAAGACATACATGCG	96-130	HEX	
OarJMP58	GAAGTCATTGAGGGGTGCTAACC	CTTCATGTTACAGGACTTTCCTCTG	145-169	FAM	
HUJ616	TTCAAACCTACACATTGACAGGG	GGACCTTTGGCAATGGAAGG	115-137	NED	M5
MCM527	GTCCATTGCCTCAAATCAATTC	AAACCACTTGACTACTCCCCAA	165-175	HEX	
ILSTS11	GCT TGC TAC ATG GAA AGT GC	CTA AAA TGC AGA GCC CTA CC	266-288	FAM	
ILSTS28	TCC AGA TTT TGT ACC AGA CC	GTC ATG TCA TAC CTT TGA GC	105-177	NED	M6
MAF214	GGG TGA TCT TAG GGA GGT TTT GGA GG	AAT GCA GGA GAT CTG AGG CAG GGA CG	183-225	HEX	
OarFCB304	CCCTAGGAGCTTTCAATAAAGAATCGG	CGCTGCTGTCAACTGGGTCAGGG	148-190	FAM	
MAF65	AAAGGCCAGAGTATGCAATTAGGAG	CCACTCCTCTGAGAATATAACATG	121-139	HEX	M7
DYMS1	AACAACATCAAACAGTAAGAG	CATAGTAACAGATCTTCCTACA	159-211	NED	
OarFCB226	CTA TAT GTT GCC TTT CCC TTC CTG C	GTG AGT CCC ATA GAG CAT AAG CTC	119-153	NED	
INRA63	ATTTGCACAAGCTAAATCTAACC	AAACCACAGAAATGCTTGGAAG	160-182	FAM	M9
MCM140	GTT CGT ACT TCT GGG TAC TGG TCT C	GTC CAT GGA TTT GCA GAG TCA G	167-193	NED	
ILSTS5	GGA AGC AAT GAA ATC TAT AGC C	TGT TCT GTG AGT TTG TAA GC	181-201	NED	
MAF33	GAT CTT TGT TTC AAT CTA TTC CAA TTT C	GAT CAT CTG AGT GTG AGT ATA TAC AG	121-141	NED	M10
BM1329	TTGTTTAGGCAAGTCCAAAGTC	AACACCGCAGCTTCATCC	160-182	FAM	
OarFCB20	AAATGTGTTTAAAGATTCCATACAGTG	GGAAAACCCCATATATACCTATAC	88-118	NED	
OarHH47	TTTATTGACAACTCTCTTCCTAACTCCACC	GTAGTTATTTAAAAAATATCATACCTCTTAAGG	130-152	HEX	M11
OarCP38	CAACTTTGGTGCATATTCAAGGTTGC	GCAGTCGCAGCAGGCTGAAGAGG	117-129	FAM	
MAF209	GAT CAC AAA AAG TTG GAT ACA ACC GTG G	TCA TGC ACT TAA GTA TGT AGG ATG CTG	109-135	NED	
OarVH72	GGCCTCTCAAGGGGCAAGAGCAGG	CTCTAGAGGATCTGGAATGCAAAGCTC	121-145	HEX	M12

Para essa análise, as 470 amostras foram distribuídas em cinco placas de 96 poços, com duas amostras sendo repetidas em todas as corridas para controle do tamanho dos fragmentos de um determinado *locus* entre as diferentes corridas.

As reações contidas em cada poço da placa foram de 1 µL de produtos das PCR e 9 µL de um mix constituído de 8 µL de formamida (Hi-Di) e 1 µL de um marcador padrão de tamanho molecular marcado com a fluorescência ROX desenvolvido para análise dos fragmentos. Antes de submeter as reações à eletroforese capilar, realizou-se uma etapa de desnaturação, a fim de diminuir a taxa de anelamento do DNA a uma temperatura de 94°C (em termociclador) por cinco minutos e resfriamento imediato (em gelo) também por cinco minutos.

Análises estatísticas

O teste de Equilíbrio de Hardy-Weinberg foi realizado com auxílio do programa Genepop (Raymond & Rousset, 1995). Este teste consiste em avaliar até que ponto as frequências genotípicas observadas se aproximaram da esperada segundo esse modelo e, assim, identificar os loci que se desviaram significativamente do equilíbrio ($P < 0,001$) em cada população. A partir deste teste, os loci ILSTS11 e ILSTS05 foram retirados das demais análises estatísticas por apresentarem desvios em quase 100% das populações. Dessa forma, utilizaram-se nas análises estatísticas as informações moleculares de 23 microssatélites genotipados em 470 ovinos da raça Morada Nova distribuídos em 32 populações.

Para testar a diferença entre as populações foram realizadas duas Análises de Variância Molecular (AMOVA) com o Arlequin v. 3.1 (Excoffier et al., 2006): (1) realizou-se um teste para verificar a diferença entre as quatro populações referentes aos Estados (CE, PB, PE e RN) e (2) o teste foi aplicado para analisar a diferença entre as 32 populações, assim como foi gerada uma matriz de F_{ST} entre as 32 populações, para verificar o grau de diferenciação entre elas. Os dados da AMOVA foram considerados nas demais estatísticas.

Outro método utilizado para analisar a estrutura real das populações deste estudo foi o de Pritchard et al. (2000) e Falush et al. (2003) empregando-se o *software* Structure v.2.3.3. Considerando, inicialmente, as 32 populações, foi estimado o número

de populações (k) mais provável a partir dos dados dos genótipos dos 23 microssatélites. A fim de identificar possíveis subdivisões nas populações, as simulações foram realizadas com clusters (k) variando de 1 a 34 (150.000 interações para o período de *burn-in* e 500.000 de repetições na Cadeia de Markov e Simulação Monte Carlo (MCMC)). Posteriormente, aplicou-se a estatística Delta K (Evanno et al., 2005) para obtenção do K que explicasse a distribuição da diversidade genética nas 32 populações.

As estatísticas F de Wright (F_{ST} , F_{IS} e F_{IT}) (Weir; Cockerham, 1984) por loco e a significância testadas por *bootstrap* (1000 reamostragens), com intervalo de confiança (IC) de 95 e 99%, além do índice de consanguinidade intrapopulacional (F_{IS}) e o P-value foram calculados através do programa FSTAT v. 1.2 (Goudet, 1995). O número total de alelos (Nta), número médio de alelos (Nam), número efetivo de alelos (Nea), a frequência alélica e de alelos privados por locos (AP) foram calculados por loco e população com o GenAlex v. 6.3 (Peakall; Smouse, 2006). O Cervus v.3.0 (Marshall et al., 1998) foi usado para obtenção dos parâmetros: heterozigosidade observada (H_o) e heterozigosidade esperada (H_e) segundo o EHW, conteúdo de informação polimórfica (PIC), probabilidade de exclusão de paternidade (PE1), probabilidade de exclusão de paternidade 2 (PE2) e probabilidades de exclusão de paternidade combinada (PEC 1 e 2), em cada loco e população.

Após os resultados obtidos por meio do *software* Structure v.2.3.3., foi calculada a Análise de Coordenadas Principais, computada com o programa GenAlex v. 6.3 (Peakall; Smouse, 2006), em seguida foi calculada a distância Dtl (Tomiuk; e Loeschke, 1995) através do *software* Molkin v 2.0 (Gutierrez et al., 2005). A partir da distância genética Dtl foi construída a árvore de distância genética pelo método *Neighbor-Net* com auxílio do programa *SplitsTree4* (Huson e Bryant 2006).

Taxas de alocação

A probabilidade de alocação das populações foi testada com o programa Structure, utilizando os procedimentos já descritos anteriormente para definição do número provável de população. Após a obtenção do melhor K considerando os dados de genótipos das 32 populações foi realizada a designação das populações em um ou mais

clusters inferidos pelos valores de suas probabilidades de correlação ou certificação, ou seja, a probabilidades de um dado animal (X) pertencer a uma dada população (K) utilizando o método de agrupamento descrito por Pritchard et al. (2000), baseado na inferência bayesiana.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estrutura populacional

Na Tabela 3 encontra-se o resultado da análise de variância molecular (AMOVA). Na primeira análise, quando foram considerados os quatro estados de origem das amostras, apenas 1,51% ($P < 0,0001$) da variação total ocorreu entre as populações ($F_{ST} = 8,04\%$). Na segunda análise, considerando as 32 populações referentes às fazendas, 7,65% do total de variação observada ($P < 0,0001$) foram devido a diferenças entre populações ($F_{ST} = 7,65\%$) e 92,35% devido a diferenças intrapopulacionais, indicando que a maior parte das diferenças decorre entre indivíduos dentro das populações.

Tabela 3. Análise de variância molecular (AMOVA) para as populações ovinas estudadas

Análises	Fonte de variação	GL	SQ	CV	%Total	F_{ST}	P-value
Análise I	Entre populações	3	135,185	0,10920	1,51	0,08039	<0,0001
Estados	Entre populações dentro dos grupos	28	572,896	0,47293	6,53		
	Dentro das populações	908	6046,960	6,65965	91,96		
Análise II	Entre populações	31	708,082	0,55154	7,65	0,07648	<0,0001
32 Populações	Dentro das populações	908	6046,960	6,65965	92,35		

GL= graus de liberdade; SQ= soma dos quadrados; CV= componente de variação; F_{ST} = índice de diferenciação.

Paiva et al. (2005), avaliando cinco raças de ovinos deslanados (Santa Inês, Bergamácia, Rabo Largo, Morada Nova e Somali) mostraram que 9,27% de toda diversidade foi proveniente das diferenças entre populações da mesma raça e afirmaram que há uma taxa de migração ou de baixa troca de animais entre rebanhos da mesma raça. As 32 populações foram reavaliadas com o programa Structure para comprovação da real estrutura das populações estudadas.

As distâncias pareadas (F_{ST}) para os microssatélites avaliados (Tabela 4) foram significativas ($P < 0,0001$). As menores distâncias foram observadas entre as populações PBF e PBG (0,004) e RNC e RNE (0,004), indicando fraca estruturação. Observaram-se distâncias consideráveis entre a população RNG com relação às demais populações. Este fator pode ter sido devido ao isolamento geográfico a que esse rebanho está submetido, uma vez que se trata de um rebanho fechado há mais de 150 anos. De modo geral, as populações estão muito próximas entre si. Isto mostra a falta de um plano de manejo dessas populações de forma a evitar acasalamentos indiscriminados entre eles ou, talvez, a própria história de formação desses rebanhos, cuja origem é do Estado do Ceará, principalmente o município de Morada Nova.

Os logaritmos de probabilidade dos dados [$\ln P(D)$], a partir da estatística bayesiana pelo programa Structure para determinar a existência de subestruturação dentro da raça, foram utilizados para inferir o melhor K com uma estatística *ad hoc* denominada ΔK , inferindo que o melhor K foi o que apresentou o maior valor para o ΔK (Figura 2), $\Delta K=3$ (30,43) e $\Delta K=5$ (23,17). Nas 33 populações inferidas (K), foi identificada uma maior probabilidade para K=3 e K=5, sendo possível visualizar a distribuição da variabilidade genética dos indivíduos de acordo com essa estrutura.

A estrutura genética das 32 populações de ovinos investigadas neste estudo com o programa Structure para K=3 e K=5 encontra-se na Figura 3. As barras verticais correspondem a cada uma das 32 populações e as diferentes espessuras representam a amostragem de cada uma, enquanto as cores referem-se às populações estimadas pelo ΔK e representadas graficamente pelo Structure. Quando a linha vertical é de uma única cor significa que 100% do genoma dessa população pertencem a este *cluster*, a menos que se tenham mais cores significativas, demonstrando o compartilhamento de alelos com outras populações ancestrais. Isto pode ser observado na maioria das populações, com exceção dos animais pertencentes à população 31, que apresentou uma única cor

Tabela 4. Distâncias pareadas (F_{ST}) entre as 32 populações ovinas estudadas

	CEA	CEB	CEC	CED	CEE	CEF	CEG	CEH	CEI	CEJ	CEK	CEL	CEM	CEN	PBG	PBF	PBE	PBD	PBB	PBA	PBC	PEB	PEC	PEA	RND	RNE	RNF	RNG	RNH	RNB	RNA	RNC
CEA	-																															
CEB	0.03	-																														
CEC	0.04	0.04	-																													
CED	0.04	0.03	0.04	-																												
CEE	0.05	0.04	0.05	0.01	-																											
CEF	0.05	0.02	0.01	0.03	0.01	-																										
CEG	0.02	0.03	0.04	0.04	0.02	0.01	-																									
CEH	0.08	0.08	0.06	0.08	0.09	0.06	0.05	-																								
CEI	0.05	0.02	0.02	0.04	0.03	0.03	0.03	0.01	-																							
CEJ	0.05	0.03	0.03	0.04	0.05	0.02	0.03	0.05	0.03	-																						
CEK	0.06	0.04	0.03	0.04	0.03	0.05	0.05	0.11	0.04	0.07	-																					
CEL	0.06	0.07	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.12	0.04	0.06	0.03	-																				
CEM	0.04	0.04	0.03	0.03	0.02	0.02	0.02	0.09	0.01	0.04	0.02	0.03	-																			
CEN	0.10	0.08	0.07	0.07	0.08	0.07	0.10	0.12	0.09	0.10	0.01	0.10	0.08	-																		
PBG	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.05	0.09	0.07	0.07	0.05	0.05	0.05	0.09	-																	
PBF	0.07	0.09	0.08	0.08	0.06	0.07	0.06	0.12	0.06	0.07	0.05	0.06	0.04	0.10	0.00	-																
PBE	0.05	0.02	0.05	0.07	0.07	0.04	0.03	0.08	0.04	0.05	0.07	0.09	0.06	0.09	0.04	0.04	-															
PBD	0.06	0.04	0.05	0.05	0.05	0.05	0.04	0.08	0.05	0.05	0.05	0.07	0.04	0.08	0.05	0.02	0.04	-														
PBB	0.09	0.05	0.06	0.04	0.06	0.06	0.05	0.09	0.05	0.07	0.06	0.08	0.05	0.07	0.05	0.07	0.03	0.06	-													
PBA	0.05	0.02	0.07	0.06	0.08	0.07	0.06	0.09	0.07	0.07	0.08	0.01	0.08	0.09	0.06	0.09	0.02	0.07	0.07	-												
PBC	0.05	0.03	0.05	0.04	0.04	0.05	0.04	0.06	0.05	0.07	0.06	0.07	0.04	0.05	0.05	0.06	0.05	0.05	0.04	0.04	-											
PEB	0.12	0.09	0.11	0.09	0.07	0.10	0.09	0.15	0.08	0.12	0.09	0.09	0.08	0.11	0.07	0.07	0.08	0.09	0.07	0.10	0.09	-										
PEC	0.05	0.01	0.05	0.04	0.04	0.04	0.02	0.08	0.03	0.04	0.06	0.09	0.03	0.08	0.02	0.02	0.02	0.03	0.03	0.05	0.02	0.02	-									
PEA	0.09	0.08	0.09	0.08	0.08	0.07	0.08	0.09	0.08	0.08	0.10	0.09	0.05	0.08	0.05	0.07	0.06	0.07	0.06	0.08	0.05	0.07	0.03	-								
RND	0.10	0.09	0.11	0.09	0.09	0.10	0.08	0.15	0.07	0.09	0.09	0.10	0.09	0.12	0.04	0.03	0.09	0.08	0.10	0.10	0.08	0.11	0.05	0.10	-							
RNE	0.03	0.02	0.03	0.05	0.03	0.04	0.02	0.08	0.01	0.05	0.05	0.06	0.02	0.06	0.04	0.04	0.04	0.04	0.03	0.06	0.03	0.07	0.01	0.06	0.05	-						
RNF	0.07	0.09	0.10	0.07	0.08	0.09	0.06	0.12	0.06	0.08	0.08	0.08	0.06	0.09	0.06	0.06	0.09	0.06	0.07	0.10	0.06	0.10	0.05	0.09	0.05	0.03	-					
RNG	0.26	0.27	0.30	0.25	0.27	0.26	0.25	0.30	0.26	0.24	0.25	0.25	0.25	0.28	0.21	0.18	0.25	0.21	0.28	0.27	0.22	0.27	0.23	0.27	0.16	0.25	0.23	-				
RNH	0.12	0.13	0.10	0.12	0.12	0.10	0.09	0.13	0.12	0.10	0.13	0.08	0.08	0.12	0.09	0.11	0.12	0.10	0.12	0.12	0.08	0.13	0.09	0.06	0.11	0.09	0.10	0.30	-			
RNB	0.08	0.06	0.06	0.08	0.08	0.08	0.08	0.11	0.05	0.06	0.07	0.08	0.06	0.07	0.04	0.05	0.07	0.06	0.04	0.09	0.06	0.08	0.04	0.08	0.09	0.03	0.07	0.29	0.13	-		
RNA	0.05	0.04	0.03	0.04	0.05	0.05	0.05	0.08	0.04	0.05	0.03	0.05	0.02	0.05	0.05	0.03	0.04	0.02	0.04	0.06	0.03	0.08	0.04	0.06	0.08	0.01	0.05	0.25	0.10	0.02	-	
RNC	0.04	0.03	0.03	0.06	0.05	0.05	0.04	0.08	0.03	0.05	0.05	0.08	0.04	0.07	0.03	0.03	0.04	0.04	0.05	0.06	0.05	0.09	0.03	0.08	0.04	0.00	0.02	0.24	0.12	0.03	0.03	-

indicando que todo esse genoma foi alocado neste *cluster*.

A população 31 é representada por animais da cidade Ouro Branco localizada no Estado do Rio Grande do Norte. Esses animais são oriundos da fazenda Pedreira, cujo rebanho, segundo o proprietário, é fechado há mais de 150 anos.

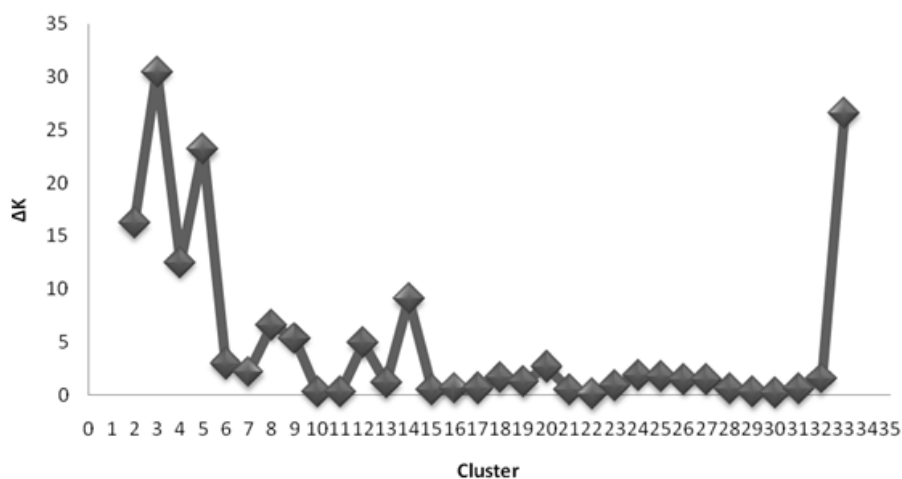


Figura 2. Estimativa do melhor K pela estatística DeltaK para as populações inferidas com o programa Structure, que variou de K1 a K33 para as 32 populações.

A partir da análise do Structure, observa-se que há uma subestruturação genética da população 17 e essa subestruturação é devido à presença de animais tanto com pelagem vermelha quanto branca. Essa subestruturação genética fica clara tanto para K=3 quanto para K=5. A população 14 também é representada por ovinos Morada Nova com pelagem branca, sendo possível constatar na Figura 3 a diferença entre animais com pelagem branca e vermelha.

Durante as visitas as fazendas, foi constatado visualmente que os animais com pelagem branca possuíam um porte maior do que os animais com pelagem vermelha. Apenas a população 32, formada por animais com pelagem vermelha, possuía um porte maior quando comparada as demais populações com pelagem igual a sua, ou seja, vermelha, assemelhando-se fenotipicamente ao porte dos animais de pelagem branca. Esse maior porte da população 32, pode ser explicado provavelmente, segundo informações do proprietário, pelos cruzamentos realizados com ovinos das raças Santa Inês e Bergamácia, que possuem um porte maior que os ovinos da raça Morada Nova.

Observa-se a partir da análise do Structure que apesar da população 32 ser formada por animais com pelagem vermelha, possui uma alta proporção de genótipos representados pela pelagem branca. Uma provável explicação para essa alta proporção de genótipos, pode ser, porque os rebanhos formados por animais com pelagem branca possivelmente foram cruzados, em algum momento, com ovinos de maior porte, provavelmente Santa Inês ou Bergamácia, explicando assim a proximidade da população 32 com as populações 14 e 17.

Após a constatação da subestruturação genética da população 17, foi realizada nova análise do Structure (Figura C, APÊNDICE C), com $K=33$, que mostra os 470 animais individualmente sendo possível identificar perfeitamente quais animais têm genótipo de Morada Nova Branca e Morada Nova vermelha.

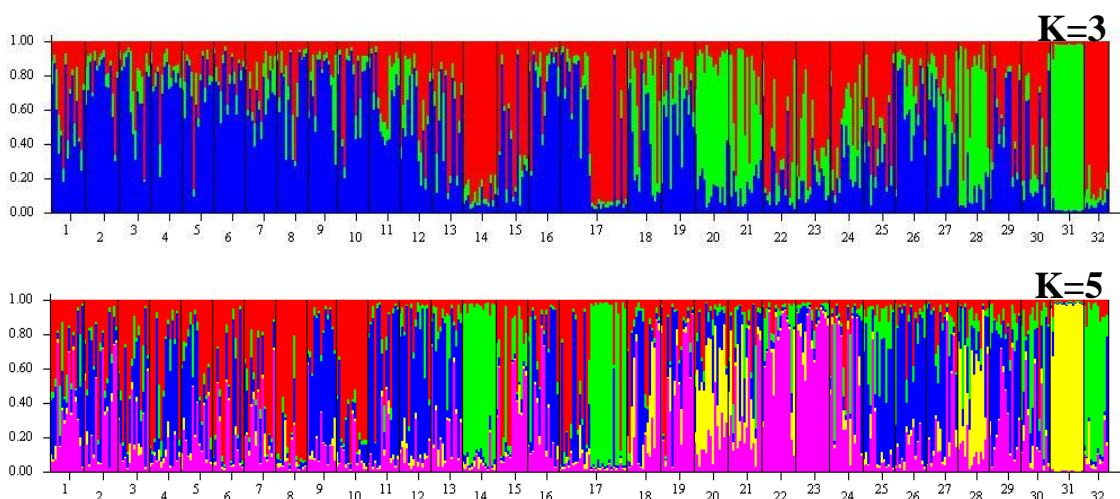


Figura 3. Distribuição da estrutura genética das 32 populações de ovinos Morada Nova investigadas neste estudo com o programa Structure para $K=3$ e $K=5$.

A Tabela 5 foi construída para $K=3$ e $K=5$ indicando as proporções dos indivíduos das 32 populações amostradas, onde cada população é designada a um ou mais *clusters*. Foi observado, para $K=3$, que praticamente todos os indivíduos das populações do Estado do Ceará e da Paraíba foram agrupados no *cluster* 1, com valores de agrupamento variando de 0,411 para PBD a 0,779 para CEF. O *cluster* 2 apresentou altas probabilidades de alocação para todos os indivíduos das populações de Pernambuco (PEA=0,626, PEB=0,605 e PEC=0,463). As populações do Estado do Rio Grande do Norte apresentaram alta proporção de indivíduos designados para os três diferentes *clusters*, com valores variando de 0,508 RNA (*cluster* 2), 0,592 RNB (*cluster*

1) e 0,959 RNG (*cluster 3*) . Para K=5, grande parcela das populações do Estado do Ceará apresentaram maior proporção de alelos no *cluster 1*.

Tabela 5. Proporções das populações pré-definidas em cada cluster inferido para K=3 e K=5

Populações	Clusters (K=3)			Clusters (K=5)				
	1	2	3	1	2	3	4	5
CEA 1	0,558	0,344	0,097	0,323	0,090	0,025	0,318	0,244
CEB 2	0,757	0,173	0,070	0,295	0,035	0,021	0,330	0,319
CEC 3	0,688	0,196	0,116	0,391	0,062	0,030	0,208	0,310
CED 4	0,746	0,178	0,076	0,446	0,067	0,029	0,080	0,377
CEE 5	0,696	0,219	0,085	0,354	0,064	0,025	0,205	0,352
CEF 6	0,779	0,162	0,059	0,565	0,034	0,015	0,168	0,218
CEG 7	0,652	0,230	0,117	0,484	0,046	0,031	0,268	0,171
CEH 8	0,701	0,192	0,107	0,801	0,042	0,031	0,068	0,058
CEI 9	0,717	0,161	0,122	0,174	0,026	0,035	0,170	0,596
CEJ10	0,728	0,199	0,074	0,698	0,027	0,022	0,104	0,150
CEK 11	0,654	0,222	0,124	0,218	0,045	0,023	0,132	0,582
CEL 12	0,514	0,333	0,153	0,157	0,079	0,046	0,095	0,622
CEM 13	0,508	0,378	0,114	0,090	0,112	0,033	0,253	0,511
CEN 14	0,070	0,874	0,056	0,033	0,866	0,024	0,044	0,032
PBA 15	0,348	0,592	0,060	0,372	0,230	0,025	0,341	0,033
PBB 16	0,742	0,181	0,076	0,183	0,077	0,020	0,271	0,449
PBC 17	0,405	0,529	0,067	0,312	0,461	0,022	0,035	0,170
PBD 18	0,411	0,242	0,347	0,228	0,037	0,186	0,254	0,294
PBE 19	0,567	0,200	0,233	0,227	0,021	0,057	0,520	0,175
PBF 20	0,178	0,105	0,717	0,147	0,041	0,409	0,197	0,206
PBG 21	0,176	0,276	0,548	0,146	0,101	0,218	0,343	0,193
PEA 22	0,209	0,626	0,165	0,061	0,107	0,089	0,667	0,076
PEB 23	0,178	0,605	0,217	0,036	0,036	0,046	0,812	0,070
PEC 24	0,302	0,463	0,235	0,149	0,114	0,058	0,528	0,152
RNA 25	0,385	0,508	0,107	0,061	0,263	0,034	0,129	0,513
RNB 26	0,592	0,247	0,161	0,112	0,104	0,026	0,125	0,632
RNC 27	0,509	0,220	0,271	0,119	0,061	0,050	0,251	0,519
RND 28	0,116	0,223	0,661	0,084	0,135	0,433	0,159	0,189
RNE 29	0,507	0,424	0,069	0,110	0,095	0,018	0,306	0,472
RNF 30	0,308	0,558	0,134	0,135	0,281	0,044	0,226	0,314
RNG 31	0,020	0,021	0,959	0,014	0,013	0,947	0,009	0,017
RNH 32	0,055	0,869	0,076	0,065	0,730	0,044	0,084	0,077

As populações de Pernambuco apresentaram alto nível de agrupamento no *cluster 4* e os indivíduos das populações da Paraíba apresentaram proporções de alelos distribuídas entre os cinco *clusters*. Por outro lado, quase todos os indivíduos das populações do Rio Grande do Norte foram agrupados no *cluster 5*. A população RNG apresentou uma grande proporção de alelos agrupados para o *cluster 3* (K=3 (0,959) e K=5(0,947)). É interessante ressaltar que as populações PBF, PBG e RND foram as únicas que também apresentaram alto nível de agrupamento no *cluster 3*, tanto para K=3 quanto para K=5, o que pode sugerir compartilhamento com alelos de indivíduos da população RNG. Em relação a população PBC, é possível observar a subdivisão

entre as variedades vermelha e branca, com os maiores valores de agrupamento distribuídos nos dois primeiros *clusters*, tanto para $K=3$, quanto para $K=5$.

Variabilidade genética intrapopulacional

Na Tabela 6, são apresentados os valores de variabilidade genética intrapopulacional, índice de fixação (F_{IS}), probabilidades de exclusão de paternidade, desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg (HW) e percentagens de dados perdidos para todas as populações ovinas estudadas.

Os 23 loci geraram 162 alelos nas 32 populações estudadas (média de 7,04 alelos por locus). O número total de alelos por locus (N_{ta}) variou de 03 para o locus MAF214 a 11 alelos para o locus MCM140. Paiva (2005), ao avaliar dez raças de ovinos no Brasil (Santa Inês, Bergamácia, Rabo Largo, Morada Nova, Somali, Hampshire, Ile de France, Corriedale, Damara e Dorper) detectou nove alelos por locus para o MAF214, porém um rebanho de ovinos Morada Nova, o qual Paiva (2005) avaliou, não foi avaliado no presente trabalho. O menor valor médio de alelos (N_{am}) foi de 2,438 também para o locus MAF214 e o maior valor foi 6,0 para os loci OarFCB304 e OarFCB226. O número efetivo de alelos variou de 1,847 (SRCRSP5) a 4,080 (OarFCB226). Os valores de heterozigosidade média observada (H_o) por população apresentaram média de 0,605, variando de 0,315 (BM1824) a 0,841 (OarFCB304) enquanto a heterozigosidade média esperada (H_e) variou de 0,487 (SRCRSP5) a 0,799 (OarFCB226) com média de 0,6643. Os marcadores SRCRSP9 (0,809), OarJMP29 (0,728), HUI616 (0,730), ILSTS28 (0,731), OarFCB304 (0,841), MAF65 (0,707) e OarFCB226 (0,806) apresentaram elevado grau de heterozigosidade média observada, com valores superiores a 70%. De acordo com Ott (1992), um marcador é considerado altamente polimórfico quando apresenta heterozigosidade maior que 70%.

O conteúdo de informações polimórficas (PIC) variou de 0,427 (MAF214) a 0,773 (OarFCB226) com média de 0,615. Dos 23 locos analisados de microssatélites, seis apresentaram alto conteúdo polimórfico, com PIC superior a 0,7 e apenas quatro com PIC inferior a 0,5. Segundo a classificação de Botstein et al. (1980), marcadores com PIC superior a 0,5 são considerados muito informativos. Com base nos valores de PIC encontrados e altas probabilidades de exclusão combinada de 0,9994 (PE1) e

Tabela 6. Estimativas por locus de índices relacionados à variabilidade genética de ovinos da raça Morada Nova com 23 marcadores SSR, nos Estados avaliados

Loci	Nta	Nam	Nea	PIC	Ho	He	PE1	PE2	¹ F _{IT}	² F _{ST}	³ F _{IS}	EHW*	% Dados perdidos
SRCRSP9	7	4,250	2,725	0,606	0,809	0,667	0,249	0,409	-0,211	0,053	-0,279	6	0,8
OarJMP29	9	4,969	3,158	0,701	0,728	0,744	0,339	0,514	0,024	0,084	-0,066	6	1,3
OarFCB193	7	4,156	2,519	0,616	0,654	0,654	0,254	0,432	0,004	0,084	-0,087	2	2,3
MAF70	10	5,094	3,009	0,711	0,693	0,743	0,359	0,54	0,072	0,112	-0,046	2	5,1
OarAE129	5	3,563	2,552	0,612	0,540	0,675	0,247	0,406	0,203	0,087	0,127	5	3,8
BM8125	5	3,656	2,436	0,587	0,644	0,637	0,225	0,393	-0,008	0,074	-0,089	2	0,8
SRCRSP5	5	3,000	1,847	0,439	0,386	0,487	0,119	0,261	0,212	0,112	0,113	5	0,8
BM1824	4	3,094	2,074	0,489	0,315	0,566	0,163	0,293	0,444	0,062	0,407	18	1,5
OarCP34	5	3,500	2,171	0,521	0,528	0,576	0,178	0,332	0,085	0,071	0,015	0	1,3
SRCRSP1	5	3,469	2,622	0,625	0,512	0,690	0,253	0,412	0,260	0,093	0,184	11	0,6
OarFCB128	5	3,875	2,308	0,552	0,526	0,590	0,197	0,369	0,113	0,091	0,024	6	0,8
OarJMP58	8	2,656	2,055	0,472	0,539	0,563	0,163	0,278	0,046	0,072	-0,028	1	0,8
HUJ616	6	4,469	2,980	0,690	0,730	0,735	0,325	0,500	0,010	0,102	-0,102	7	7
MCM527	7	4,375	2,831	0,675	0,601	0,719	0,312	0,488	0,167	0,083	0,092	3	7,2
ILSTS28	9	4,281	2,649	0,598	0,731	0,658	0,246	0,405	-0,110	0,040	-0,157	5	1
MAF214	3	2,438	1,924	0,427	0,382	0,536	0,143	0,233	0,290	0,105	0,207	3	5,3
OarFCB304	9	6,000	3,974	0,766	0,841	0,795	0,425	0,603	-0,056	0,051	-0,113	2	0,8
MAF65	9	5,938	3,901	0,755	0,707	0,788	0,409	0,587	0,103	0,034	0,072	1	11,3
DYMS1	10	5,875	3,373	0,727	0,546	0,752	0,379	0,565	0,276	0,068	0,223	11	1,1
OarFCB226	9	6,063	4,080	0,773	0,806	0,799	0,437	0,615	-0,006	0,053	-0,063	0	0,4
INRA63	7	3,813	2,160	0,510	0,463	0,547	0,166	0,331	0,156	0,164	-0,010	7	1,7
MCM140	11	5,094	3,007	0,689	0,676	0,729	0,329	0,507	0,076	0,083	-0,009	1	1,5
MAF33	7	4,781	2,516	0,602	0,554	0,632	0,240	0,424	0,126	0,089	0,041	5	4
Média	7,04	4,279	2,734	0,615	0,605	0,6643	0,9994	0,9999	0,092	0,079	0,013		

¹IC. 99% = 0,021-0,168; ²IC. 99% = 0,066-0,095; ³IC. 99% = -0,058-0,094; Nta = número total de alelos; Nam = número médio de alelos; Nea = número efetivo de alelos; PIC = conteúdo de informação polimórfica; Ho = heterozigosidade observada; He = heterozigosidade esperada; PE1 = probabilidade de exclusão de paternidade 1; PE2 = probabilidade de exclusão de paternidade 2; F_{IT} = índice de fixação referente à população global; F_{ST} = endogamia devido à diferenciação entre sub-populações, em relação à população total; F_{IS} = coeficiente de endogamia em relação às suas subpopulações; EHW = número de populações que desviaram do equilíbrio de Hardy-Weinberg (P<0,05).

0,9999 (PE2), sugere-se que todos os locos podem ser utilizados para compor um painel para teste de paternidade em estudos posteriores com as populações deste trabalho.

Os percentuais de dados perdidos podem ser considerados satisfatórios. De 23 loci analisados nas populações, 22 loci tiveram menos de 8% dos alelos não identificados com valor mínimo de 0,4% (OarFCB226) e máximo de 7,2% (MCM527). Apenas um locus apresentou 11,3% de alelos não identificados (MAF65).

O F_{ST} por locus variou de 0,034 (MAF65) a 0,164 (INRA63) e o valor médio foi de 0,079, significando que apenas 7,9% do total da variação genética foi explicada pela diferença entre populações e a maioria da diversidade genética existente (92,1%) correspondeu às diferenças entre os indivíduos dentro das populações. Os valores médios de F_{IS} e F_{IT} para todos os loci foram de 0,013 e 0,092 respectivamente. O F_{IT} é o índice de fixação ou coeficiente de endogamia para o conjunto das populações. Por outro lado, o F_{IS} é o coeficiente de consanguinidade dentro das populações que varia de -1 quando todos os indivíduos são heterozigotos, a +1, quando não há heterozigotos na população. Neste estudo, 12 loci apresentaram F_{IS} negativo sugerindo excesso de heterozigotos nesses loci ou exogamia. Por outro lado, o F_{IS} positivo (0,013) provavelmente reflete a subdivisão da população geral em subpopulações com consanguinidade acumulada. O teste do EHW para os loci polimórficos mostrou que apenas 2 loci não desviaram do EHW ($P > 0,05$). Nas demais populações, os loci BM1824 (18), SRCSR1 (11) e DYMS1 (11) apresentaram-se em desequilíbrio em maior número de populações e, os loci OarJMP58 (1), MAF65 (1) e MCM140 (1) apenas em uma população.

De acordo com a estimativa dos índices relacionados à variabilidade genética (Tabela 7), o número médio de alelos foi menor para a população RNG com 4,783 alelos, enquanto a população PBC apresentou 8,826. Vale lembrar que RNG é a população que mais se diferenciou nas análises anteriores e que se trata de um rebanho fechado há mais de 150 anos, de acordo com o proprietário. O número efetivo de alelos variou de 3,161 (RNG) a 5,196 (PBC).

Das 32 populações, 22 apresentaram H_o superior a H_e , indicando que provavelmente 32% das populações não estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg. A população RNG apresentou menores valores de H_o (0,372) e H_e (0,375), devido ao

baixo número de alelos, enquanto a população CEJ (0,682) apresentou maior valor para H_o e a população PBC (0,664) apresentou maior valor para a H_e .

Tabela 7. Estimativas de índices relacionados à variabilidade genética das populações de ovinos da raça Morada Nova, nos Estados avaliados

Populações	N	Nam	Nea	H_o	H_e	F_{IS}	P	EHW*
CEA 1	15	6,696	4,483	0,597	0,598	0,00477	0,464321	3
CEB 2	15	7,087	4,594	0,638	0,615	-0,05098	0,810362	0
CEC 3	14	7,087	4,473	0,568	0,576	0,06925	0,112414	4
CED 4	14	6,957	4,817	0,634	0,632	-0,01545	0,635386	2
CEE 5	14	6,522	4,294	0,625	0,582	-0,05485	0,860215	2
CEF 6	14	6,348	4,273	0,660	0,619	-0,06356	0,84653	4
CEG 7	14	6,435	4,162	0,667	0,609	-0,10389	0,942326	2
CEH 8	14	6,217	4,171	0,537	0,560	0,07051	0,14565	2
CEI 9	13	6,261	4,141	0,588	0,590	0,04297	0,286413	2
CEJ 10	14	6,261	4,138	0,682	0,608	-0,09346	0,902248	8
CEK 11	14	6,609	4,045	0,605	0,576	-0,00689	0,56696	4
CEL 12	14	6,478	4,157	0,650	0,589	-0,04319	0,769306	3
CEM 13	14	6,435	4,188	0,594	0,593	-0,04401	0,773216	4
CEN 14	15	7,609	4,753	0,579	0,608	0,10368	0,024438*	6
PBA 15	14	6,522	4,555	0,636	0,584	-0,09215	0,954057	0
PBB 16	14	6,435	4,215	0,623	0,605	0,03493	0,27566	3
PBC 17	30	8,826	5,196	0,595	0,664	0,08144	0,010753*	10
PBD 18	15	6,565	4,098	0,611	0,585	-0,04619	0,767351	4
PBE 19	15	7,174	4,372	0,639	0,585	-0,10526	0,969697	2
PBF 20	15	6,652	4,484	0,617	0,590	0,01576	0,435973	2
PBG 21	15	6,957	4,563	0,603	0,608	0,09198	0,043011*	4
PEA 22	15	6,609	4,293	0,588	0,590	0,03503	0,317693	2
PEB 23	15	6,304	4,137	0,576	0,535	0,01137	0,442815	1
PEC 24	15	7,435	4,837	0,611	0,617	-0,0212	0,658847	4
RNA 25	14	7,217	4,597	0,647	0,617	0,01497	0,396872	2
RNB 26	14	6,478	4,351	0,591	0,571	-0,05479	0,812317	3
RNC 27	14	6,304	4,158	0,611	0,592	-0,03372	0,73607	4
RND 28	14	6,391	4,426	0,632	0,596	-0,06986	0,892473	3
RNE 29	14	6,870	4,449	0,624	0,615	-0,03372	0,715543	4
RNF 30	13	6,565	4,327	0,601	0,586	-0,039	0,745846	3
RNG 31	15	4,783	3,161	0,372	0,375	0,06754	0,198436	4
RNH 32	11	6,522	4,435	0,574	0,582	0,04157	0,294233	3

N = número de animais por população; Nam = número médio de alelos; Nea = número efetivo de alelos; H_o = heterozigosidade observada; H_e = heterozigosidade esperada; PIC = conteúdo de informação polimórfica; F_{IS} = coeficiente de consanguinidade dentro de cada população; EHW = número de loci que desviaram do equilíbrio de Hardy-Weinberg ($P < 0,05$); *Quantidade de locus que apresentaram desvios significativos ($P < 0,05$).

Em 18 populações, o F_{IS} foi negativo sugerindo excesso de heterozigotos nessas populações. Nas demais populações (14) o F_{IS} foi positivo podendo inferir que os valores de F_{IS} positivos sejam reflexos do efeito da consanguinidade, que pode contribuir para o déficit de heterozigotos observados devido aos acasalamentos entre indivíduos aparentados que ocorrem nas pequenas populações. Os valores de consanguinidade dentro das populações (F_{IS}) foram abaixo de 0,10, ou seja, abaixo de valores considerados muito críticos, com exceção de 3 populações (CEG, CEN e PBE).

Esse fato deve-se provavelmente aos acasalamentos entre indivíduos parentes que ocorrem em pequenas populações.

A população CEJ apresentou 8 loci desviando do EHW ($P < 0,05$), enquanto nas populações CEB e PBA todos os loci aderiram ao EHW ($P < 0,05$). Isso mostra grande diferença na quantidade de loci que não estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg entre as populações analisadas. Essa quantidade de loci desviados, em algumas populações analisadas, provavelmente deve-se ao fato de que os ovinos eram criados, na maioria das propriedades, por pequenos produtores, havendo geralmente acasalamentos entre animais aparentados, além disso, não existia controle zootécnico nessas propriedades.

Como foi observada uma subestruturação genética da população PBC, foi avaliada a variabilidade genética intrapopulacional das duas subpopulações (Tabela 8). Dessa forma, os indivíduos pertencentes à variedade vermelha continuaram com a denominação PBC e os indivíduos pertencentes à variedade branca receberam a denominação PBH. A H_o foi menor que a H_e , indicando que existe desequilíbrio de HW nessas populações. A própria subdivisão da população pode ser uma provável explicação para esse comportamento. Com base nos valores de F_{IS} percebe-se na população PBH o valor foi acima de 0,10, que é um indicativo de excesso de homozigotos ou consanguinidade, demonstrando também, com esse valor positivo, que essa população não se encontra em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Tabela 8. Estimativas dos índices relacionados à variabilidade genética intrapopulacional das populações fragmentadas de ovinos da raça Morada Nova

Populações	N	Nam	NeA	H_o	H_e	F_{IS}	P	EHW**
PBC	18	4,78	2,95	0,63	0,64	0,05115	0,180841	3
PBH	12	4,43	2,85	0,56	0,61	0,10494	0,017595*	5

N = número de animais por população; Nam = número médio de alelos; NeA = número efetivo de alelos; H_o = heterozigosidade observada; H_e = heterozigosidade esperada; PIC = conteúdo de informação polimórfica; F_{IS} = coeficiente de consanguinidade dentro de cada população; EHW = número de loci que desviaram do equilíbrio de Hardy-Weinberg ($P < 0,05$); *Quantidade de locos que apresentaram desvios significativos ($P < 0,05$).

Variabilidade genética interpopulacional

As análises da variabilidade genética interpopulacional foram feitas após os resultados do Structure. Foram realizadas três análises de variância molecular (AMOVA) para verificar quanto à variedade branca (CEN e PBH) e a população 31

(RNG), que está bem diferenciada, contribuiu para aumentar o valor do F_{ST} (Tabela 9). Na primeira análise foram consideradas as populações brancas e a população 31, após alocação dos indivíduos da fazenda PBC com as duas variedades branca e vermelha. Como pode ser observado na Tabela 9, 7,90% ($P<0,0001$) da variação total ocorreu entre as populações ($F_{ST}=7,9\%$). Na segunda análise, considerando a população 31 e retirando as populações brancas, 7,56% do total de variação observado ($P<0,0001$) foi devido a diferenças entre populações ($F_{ST}=7,56\%$). Na terceira análise foram retiradas as populações brancas e a população 31, considerando apenas as demais populações com pelagem vermelha; 6,25% ($P<0,0001$) da variação total ocorreu entre as populações ($F_{ST}=6,25\%$). Após as três AMOVA, foi possível observar que o F_{ST} não alterou muito quando foram retiradas das análises as duas populações brancas (CEN e PBH), no entanto, a população 31 foi a que mais contribuiu para aumentar o valor do F_{ST} .

Tabela 9. Análise de variância molecular (AMOVA) para as populações fragmentadas de ovinos da raça Morada Nova

Análises	Fonte de variação	GL	SQ	CV	%Total	F_{ST}	P-value
Análise I	Entre populações	32	731,898	0,56987	7,90	0,07903	<0,0001
Populações brancas e população 31	Dentro das populações	907	6023,143	6,64073	92,10		
Análise II	Entre populações	30	660,802	0,54249	7,56	0,07565	<0,0001
Sem as populações brancas e com a população 31	Dentro das populações	849	5627,810	6,62875	92,44		
Análise III	Entre populações	29	562,230	0,44734	6,25	0,06247	<0,0001
Sem as populações brancas e a população 31	Dentro das populações	820	5505,543	6,71408	93,75		

GL=graus de liberdade; SQ=soma dos quadrados; CV= componente de variação; F_{ST} =índice de diferenciação.

A matriz de distâncias genéticas Dtl (Tomiuk; Loeschcke, 1995) entre as populações ovinas estudadas, após alocação dos indivíduos brancos e vermelhos, encontram-se na Tabela 10. As menores distâncias genéticas foram observadas entre as populações CEE e CEG(0,03), CEF e CEG(0,03), PBB e PBE(0,03) e PEA e

PEC(0,03). (0,03). Por outro lado, a maior distância genética foi observada entre as populações PBA e RNG (0,32) e PBH e RNG (0,32).

A população RNG apresentou as maiores distâncias genéticas quando comparadas às demais populações, possivelmente, devido ao isolamento geográfico a que esses animais foram submetidos ao longo dos últimos 150 anos. Trata-se de um rebanho com animais com as mesmas características fenotípicas dos demais ovinos da raça Morada Nova, porém com um menor porte, criados em sistema ultra-extensivo, ou seja, não há manejos nutricional, reprodutivo e sanitário adequados, o investimento é quase nenhum, os animais vivem em completa liberdade, alimentando-se de pastagem nativa, andando às vezes até dez quilômetros por dia para procurar alimentos, sem qualquer suplemento nutricional; a monta é natural e os animais nunca foram vacinados e, não há qualquer controle zootécnico.

A partir da distância genética Dtl (Tomiuk; Loeschcke, 1995) foi construída a árvore de distância genética (Figura 4) pelo método *Neighbor-Net* com auxílio do programa *SplitsTree4* (Huson e Bryant 2006). Pode-se observar, mais uma vez, a diferenciação da população RNG das demais populações, evidenciando também que essa população, apesar de distante, compartilha alguns alelos com as demais populações. As populações PBH e CEN mostraram-se distintas, afastadas das demais populações, porém compartilhando alelos com as outras populações investigadas, principalmente a população PBH com PBC. Este fato pode ser explicado provavelmente por pertencerem à mesma fazenda, localizada no Estado da Paraíba.

A análise de coordenadas principais (CPA) foi realizada, após a alocação dos indivíduos com pelagens branca e vermelha. Para essa análise, a população 31 foi retirada, por já ter ficado claro que a mesma está se diferenciando das demais, podendo dessa forma, influenciar na formação das coordenadas. As duas coordenadas principais foram responsáveis por mais de 45% de toda variação observada entre as populações, a primeira foi responsável por 25,78% da variação, enquanto a segunda explicou 20,03% (Figura 5). Um terceiro componente com um percentual de 16,38% também contribuiu para a variação total observada com as populações. Os três componentes resultaram em um percentual cumulativo de 62,18%.

Tabela 10. Matriz de distância Dtl entre cada par das populações investigadas de ovinos da raça Morada Nova

	CEA	CEB	CEC	CED	CEE	CEF	CEG	CEH	CEI	CEJ	CEK	CEL	CEM	CEN	PBA	PBB	PBC	PBH	PBD	PBE	PBF	PBG	PEA	PEB	PEC	RNA	RNB	RNC	RND	RNE	RNF	RNG	RNH
CEA	-																																
CEB	0,06	-																															
CEC	0,06	0,06	-																														
CED	0,07	0,05	0,06	-																													
CEE	0,07	0,05	0,05	0,04	-																												
CEF	0,06	0,06	0,04	0,04	0,04	-																											
CEG	0,04	0,05	0,05	0,06	0,03	0,03	-																										
CEH	0,07	0,07	0,06	0,05	0,06	0,04	0,05	-																									
CEI	0,06	0,06	0,05	0,07	0,04	0,06	0,05	0,06	-																								
CEJ	0,08	0,07	0,07	0,05	0,04	0,04	0,04	0,06	0,06	-																							
CEK	0,06	0,05	0,05	0,05	0,04	0,04	0,05	0,07	0,04	0,06	-																						
CEL	0,07	0,07	0,08	0,09	0,06	0,08	0,05	0,10	0,05	0,09	0,06	-																					
CEM	0,07	0,09	0,05	0,07	0,05	0,07	0,07	0,08	0,06	0,09	0,05	0,07	-																				
CEN	0,12	0,12	0,13	0,11	0,12	0,12	0,11	0,12	0,14	0,13	0,10	0,14	0,13	-																			
PBA	0,09	0,05	0,10	0,08	0,08	0,10	0,09	0,10	0,10	0,11	0,08	0,11	0,11	0,13	-																		
PBB	0,08	0,06	0,06	0,07	0,07	0,06	0,06	0,07	0,05	0,08	0,06	0,08	0,08	0,11	0,10	-																	
PBC	0,08	0,05	0,07	0,04	0,06	0,05	0,07	0,07	0,07	0,07	0,06	0,08	0,07	0,10	0,06	0,06	-																
PBH	0,11	0,13	0,11	0,13	0,11	0,11	0,13	0,13	0,13	0,14	0,12	0,15	0,11	0,09	0,12	0,14	0,06	-															
PBD	0,07	0,09	0,10	0,07	0,06	0,07	0,05	0,08	0,08	0,06	0,07	0,10	0,09	0,12	0,11	0,07	0,09	0,16	-														
PBE	0,06	0,05	0,05	0,05	0,06	0,06	0,05	0,07	0,04	0,06	0,04	0,07	0,08	0,11	0,08	0,03	0,06	0,14	0,05	-													
PBF	0,10	0,10	0,07	0,07	0,08	0,07	0,07	0,11	0,10	0,10	0,08	0,09	0,10	0,12	0,13	0,09	0,09	0,18	0,08	0,05	-												
PBG	0,10	0,10	0,08	0,08	0,07	0,09	0,06	0,08	0,08	0,09	0,08	0,09	0,10	0,12	0,13	0,07	0,09	0,15	0,06	0,05	0,04	-											
PEA	0,08	0,07	0,06	0,06	0,05	0,07	0,06	0,08	0,06	0,07	0,06	0,08	0,06	0,12	0,09	0,07	0,09	0,12	0,07	0,05	0,06	0,05	-										
PEB	0,09	0,08	0,08	0,09	0,06	0,08	0,09	0,10	0,07	0,11	0,06	0,08	0,07	0,14	0,08	0,09	0,11	0,17	0,09	0,06	0,08	0,09	0,04	-									
PEC	0,08	0,07	0,08	0,07	0,06	0,07	0,06	0,08	0,07	0,09	0,07	0,10	0,06	0,11	0,09	0,07	0,08	0,12	0,06	0,05	0,07	0,06	0,03	0,05	-								
RNA	0,08	0,07	0,06	0,06	0,07	0,07	0,08	0,07	0,06	0,09	0,05	0,08	0,06	0,08	0,11	0,07	0,07	0,11	0,09	0,07	0,08	0,08	0,08	0,11	0,08	-							
RNB	0,06	0,06	0,07	0,07	0,07	0,06	0,06	0,07	0,07	0,08	0,05	0,09	0,07	0,08	0,11	0,07	0,06	0,11	0,08	0,05	0,08	0,07	0,08	0,09	0,07	0,07	-						
RNC	0,04	0,06	0,06	0,08	0,05	0,07	0,04	0,08	0,05	0,07	0,05	0,06	0,07	0,13	0,12	0,06	0,08	0,13	0,05	0,05	0,08	0,06	0,06	0,09	0,07	0,07	0,05	-					
RND	0,12	0,08	0,07	0,06	0,07	0,08	0,07	0,11	0,10	0,10	0,06	0,10	0,10	0,11	0,11	0,07	0,06	0,16	0,07	0,05	0,06	0,06	0,07	0,10	0,06	0,08	0,09	0,08	-				
RNE	0,06	0,05	0,07	0,06	0,07	0,06	0,05	0,09	0,05	0,08	0,04	0,07	0,06	0,12	0,07	0,07	0,07	0,12	0,08	0,05	0,10	0,11	0,06	0,07	0,07	0,07	0,05	0,09	-				
RNF	0,10	0,09	0,08	0,08	0,07	0,08	0,08	0,10	0,08	0,09	0,06	0,10	0,06	0,12	0,12	0,09	0,08	0,15	0,07	0,08	0,10	0,10	0,08	0,07	0,06	0,07	0,07	0,08	0,07	-			
RNG	0,24	0,27	0,20	0,18	0,20	0,22	0,22	0,24	0,23	0,22	0,20	0,19	0,22	0,20	0,32	0,27	0,23	0,32	0,18	0,19	0,12	0,15	0,18	0,21	0,19	0,23	0,22	0,22	0,15	0,25	0,22	-	
RNH	0,10	0,11	0,09	0,10	0,09	0,11	0,09	0,11	0,13	0,10	0,08	0,12	0,08	0,12	0,11	0,13	0,08	0,11	0,11	0,12	0,12	0,11	0,08	0,11	0,09	0,09	0,10	0,10	0,11	0,08	0,08	0,18	-

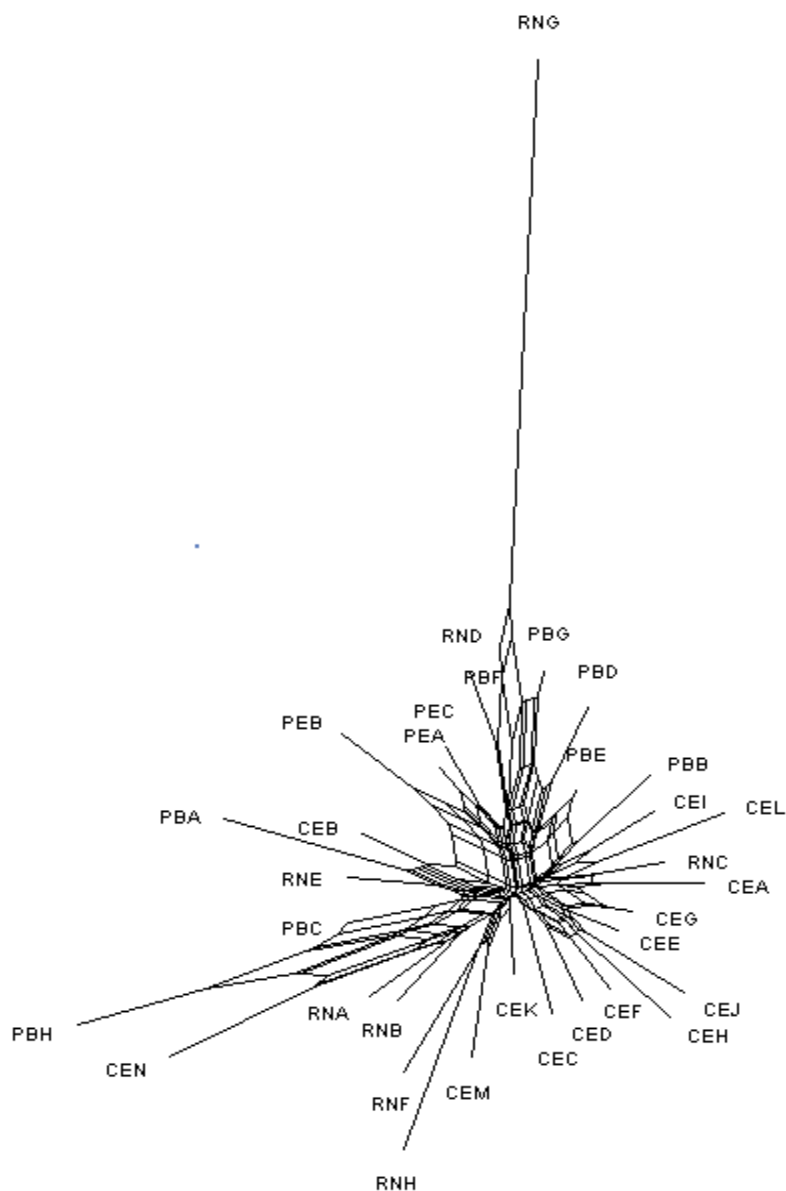


Figura 4. Árvore de distância genética agrupada pelo método Neighbor-Net baseada nos valores da distância Dtl, demonstrando as relações genéticas entre as populações investigadas de ovinos da raça Morada Nova.

A população PBH foi a mais dissimilar, seguida da população CEN, ambas representadas por animais com pelagem branca. Outro grupamento foi constituído pelas populações do Estado do Rio Grande do Norte (RNA, RNB, RNF e RNH). As

populações do Estado de Pernambuco também formaram um agrupamento distinto. De certa forma, a separação entre as populações no gráfico adverte que há características genéticas entre as populações que as tornam distintas.

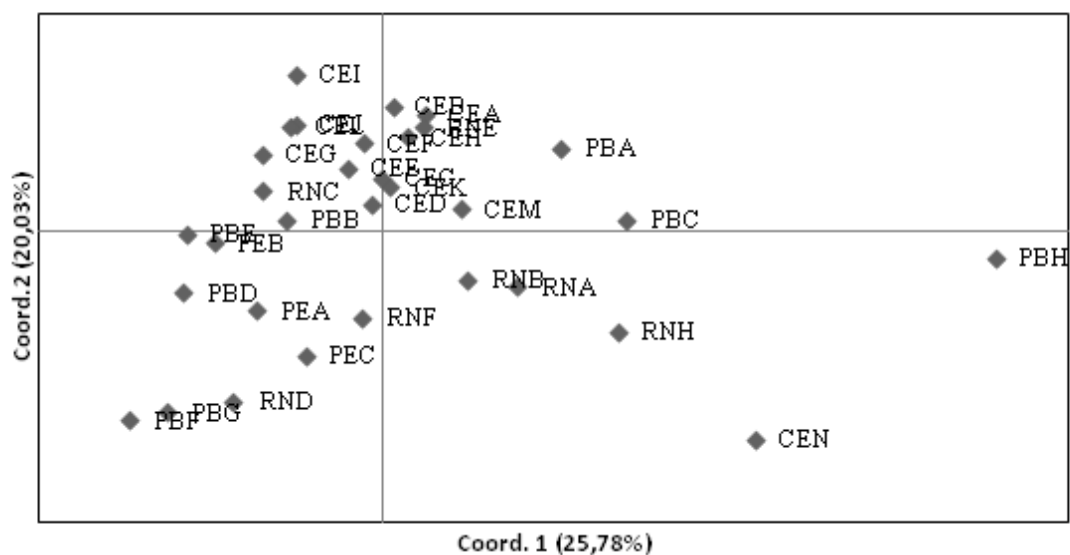


Figura 5. Representação da análise de coordenadas principais (CP) das 32 populações obtidas a partir da distância genética Dtl.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos sugerem a existência de subestruturação das populações da raça Morada Nova nos Estados avaliados, com variabilidade genética entre as populações e dentro das populações, sendo maior a diversidade genética dentro que entre populações.

Os microssatélites analisados são polimórficos e com capacidade para identificar a variabilidade e a diversidade genética em ovinos.

O rebanho formado por animais da cidade Ouro Branco, localizada no Estado do Rio Grande do Norte, é distante geneticamente das demais populações de ovinos Morada Nova, tornando-se rebanho referência para a conservação da raça e para futuros estudos sobre a diversidade genética da raça, servindo dessa forma como rebanho controle.

As variedades da raça Morada Nova com pelagem vermelha e pelagem branca são geneticamente distintas, dessa forma recomenda-se futuros estudos para uma avaliação mais detalhada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMOS, W.; HOFFMAN, J.I.; FRODSHAM, A.; ZHANG, L.; BEST, S.; HILL, A.V.S. Automated binning of microsatellite alleles: problems and solutions. **Molecular Ecology Notes**, v.7, p.10–14, 2007.

ARORA, R.; BHATIA, S.; SEHRAWAT, A.; MAITY, S.B.; KUNDU, S.S. Genetic variability in Jalauni sheep of India inferred from microsatellite data. **Livestock Research for Rural Development**, v.20, n.1, 2008.

BOTSTEIN, D.; WHITE, R.L.; SKOLNICK, M.; DAVIS, R.W. Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **Am J Hum Genet**, v.32, p.314-331, 1980.

BOYCE, T.M.; ZWICK, M.E.; AQUADRO, C.F. Mitochondrial DNA in bark weevils: size, structure, and heteroplasmy. **Genetics**, v.123, p.825–836, 1989.

EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. **Molecular Ecology**, v.14, p.2611-2620, 2005.

EXCOFFIER, L.; LAVAL, G.; SCHNEIDER, S. Arlequin (Versao 3.1). **An Integrated Software Package for Population Genetics Data Analysis. Computational and Molecular Population Genetics Lab (CMPG)**. Institute of Zoology, University of Berne, Switzerland. 145p. 2006.

FACÓ, O.; PAIVA, S.R.; ALVES, L.R.N.; LÔBO, R.N.B.; VILLELA, L.C.V. **Raça Morada Nova: Origem, Características e Perspectivas**. Embrapa Caprinos. Documento 75. Sobral CE, 43p. 2008.

FALUSH, D.; STEPHENS, M.; PRITCHARD, J.K. Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data: Linked Loci and Correlated Allele Frequencies. **Genetics**, v.164, p.1567–158, 2003.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION – FAO. Secondary Guidelines for Development of National Farm Animal Genetic Resources Management Plans

Measurement of Domestic Animal Diversity: Recommended Microsatellite Markers
New Microsatellite Marker Sets Recommendations of Joint ISAG/ FAO Standing
Committee. In: BRADLEY, D.G.; FRIES, R.; BUMSTEAD, N. et al. (Eds.) **Food and
Agriculture Organization of the United Nations**. 2004. Online.:
<<http://dad.fao.org/en/refer/library/guidelin/marker.pdf>> Acesso em: Novembro. 2011.

GAMA, L.T. Manutenção da variabilidade genética em programas de seleção. In: **I
SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE CONSERVAÇÃO DE RECURSOS
GENÉTICOS (RAÇAS NATIVAS PARA O SEMI-ÁRIDO)**. Recife- PE. Anais...
p.38-44, 2004.

GOUDET, J. FSTAT Version 1.2: a computer program to calculate F-statistics. **J.
Heredity**, v.86, p.485-486, 1995.

GUTIERREZ, J.P.; ROYO, L.J.; ALVAREZ, I.; GOYACHE, F. MolKin v. 2.0: A
Computer Program for Genetic Analysis of Populations Using Molecular Coancestry.
Information Journal of Heredity, v.96, n.6, p.718-721, 2005.

HUSON, D.H.; BRYANT, D. Application of Phylogenetic Networks in Evolutionary
Studies, **Mol. Biol. Evol.**, v.23, n.2, p.254-267, 2006.

KEVORKIAN, S.E.M.; GEORGESCU, S.E.; MANEA, M.A.; ZAULET, M.;
HERMENEAN, A.O.; COSTACHE, M. Genetic diversity using microsatellite markers
in four Romanian autochthonous sheep breeds. **Romanian Biotechnological Letters**,
v.15, n.1, p.5059-5065, 2010.

LANNELUC, I.; HOSPITAL, F.; CHEVALET, C.; ELSSEN, J.M.; GELLIN, J. Genetic
analysis of fingerprints in Merinos d'Arles Booroola Merino crossbred sheep. **Animal
Genetic**, v.23, p.339-346, 1992.

LASAGNA, E.; LANDI, V.; BIANCHI, M.; MARTÍNEZ, A.M.; SARTI, F.M. Genetic
characterization of Appenninica sheep breed by microsatellites. **Italian Journal
Animal Science**. v.8, Suppl.2, p.96-98, 2009.

MARIANTE, A.S.; ALBUQUERQUE, M.S.M.; EGITO, A.A. et al. Present status of the conservation of livestock genetic resources in Brazil. **Livestock Science**, v.120, p.204–212, 2009.

MARSHALL, T.C.; SLATE, J.; KRUK, L. et al. Statistical confidence for likelihoodbased paternity inference in natural populations. **Molecular Ecology**, v.7, p.639–655, 1998.

MATTHEWS, G.D.; CRAWFORD, A.M. Cloning, sequencing and linkage mapping of the NRAMP1 gene of sheep and deer. **Animal Genetic**, v.29, p.1–6, 1998.

MENEZES, M.P.C. **Variabilidade e relações genéticas entre raças caprinas brasileiras, ibéricas e canárias**. 2005. 110 f. Tese (Doutorado Integrado em Zootecnia)- Universidade Federal da Paraíba, Universidade Federal Rural de Pernambuco e Universidade Federal do Ceará. Areia, PB: CCA/UFPB, 2005.

MESZAROS, P.; REES, M.J.; WIJERS, R.A.M.J. **ApJ**, 499, 301, 1998.

MORAIS, O.R. **O melhoramento genético de ovinos no Brasil**. In: **Melhoramento Genético Aplicado à Produção Animal** (Ed. Pereira J.C.C.), 3ed. Belo Horizonte, MG, FEPMUZ Editora, 555p. 2001.

NAHAS, S.M.; HASSAN, A.A.; MOSSALLAM, A.A.A.; MAHFOUZ, E.R.; BIBARS, M.A.; ORABY, H.A.S.; HONDT, H.A. Analysis of genetic variation in different sheep breeds using microsatellites. **African Journal of Biotechnology**, v.7, n.8, p.1060-1068, 2008.

NANEKARANI, S.; AMIRINIA, C.; AMIRMOZAFARI, N. Genetic analysis of Karakul sheep breed using microsatellite markers. **African Journal of Microbiology Research**, v.5, n.6, p.703-707, 2011.

OTT, J. Strategies for characterizing highly polymorphic markers in human gene mapping. **American Journal of Human Genetics**, v.51, p.283-290, 1992.

PAIVA, S.R. **Caracterização da diversidade genética de ovinos com quatro técnicas moleculares**. 2005, 108 f. (Tese de Doutorado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2005.

PEAKALL, R.O.D.; SMOUSE, P.E. Genalex 6:genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research.. **Molecular Ecology**, Notes, v.6, n.1, p.288-295, 2006.

PRITCHARD, J.K.; STEPHENS, M.; Donnelly, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v.155, p.945–959, 2000.

RAYMOND, M.; ROUSSET, F. Genepop (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. **J. Heredity**, v.86, p.248-249, 1995.

ROSENBERG, N.A. DISTRUCT: a program for the graphical display of structure results. **Molecular Ecology** Notes, v.4, p.137-138, 2004.

TAPIO, M.; OZEROV, M.; TAPIO, I.; TORO, M.A; MARZANOV, N.; ČINKULOV, M.; GONCHARENKO, G.; KISELYOVA, T.; MURAWSKI, M.; KANTANEN, J. Microsatellite-based genetic diversity and population structure of domestic sheep in northern Eurasia. **BMC Genetics**, v.11, n.76, p.11, 2010.

TOMIUK, J.; LOESCHCKE, V. Genetic identity combining mutation and drift. **Heredity**, v.74, p.607-615, 1995.

WEIR, B.S.; COCKERHAM, C.C. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. **Evolution**, v.38, p.1358-1370, 1984.

CONSIDERAÇÕES FINAIS E IMPLICAÇÕES

Este trabalho possibilitará fornecer informações para auxiliar os programas de Conservação de Recurso Genético Animal e Melhoramento da raça, através da rede de compartilhamento que existe empenhada com este propósito, de forma a otimizar as atividades em andamento.

Com os resultados aqui encontrados é possível saber a verdadeira situação dos rebanhos no que tange a situação de variabilidade genética racial, como também agrupamento de características dos rebanhos, e ajudar a gerir essas populações.

As tomadas de decisões no que diz respeito a utilização de reprodutores e matrizes da raça Morada Nova se dará de forma mais coerente e assistida para a manutenção da variabilidade intra e inter racial.

Os criadores da raça poderão fazer permuta de reprodutores do rebanho, tendo como fundamento de escolha a variabilidade genética.

APÊNDICES

APÊNDICE A

Metodologia Extração DNA de Tecido

1. Numerar três conjuntos de tubos do tipo eppendorf de 1,5 ml sendo que o primeiro conjunto poderá ser 2,0ml, pois facilita na hora da maceração do material;
2. Cortar pequenos pedaços de pelos contendo os bulbos (aproximadamente 30);
3. Adicionar 500 microlitros do tampão de extração contendo CTAB e com a ajuda de esferas metálicas, que serão colocadas duas em cada tubo, o material será levado ao macerador de amostras onde deverá ficar por 30 segundos (É sugerido que se macere por 2 vezes);
4. Incubar os tubos no banho-maria a 60°C por uma hora. A cada 20 minutos de incubação retirar os tubos, passar pelo vórtex e retornar ao banho maria;
5. Adicionar 20 microlitros de Proteinase k (10 mg/ml) a cada amostra.(Caso a proteinase K esteja em concentração 20mg/ml, ao invés de se adicionar 20 microlitros serão adicionados 10 microlitros.);
6. Deixar em banho- maria a 55°C overnight (16 horas);
7. Retirar os tubos do banho-maria e centrifugar por 2 minutos a 14.000 rpm;
8. Adicionar 500 microlitros de clorofórmio- álcool isoamílico (24:1) no segundo jogo de tubos eppendorf;
9. Remover o sobrenadante (aproximadamente 450 microlitros) e inserir nos tubos contendo a solução clorofórmio- álcool isoamílico (24:1);
10. Homogeneizar as soluções gentilmente na horizontal com cuidado para não derramar a solução;
11. Centrifugar por 15 minutos a 14.000 rpm;
12. Remover apenas a camada superior e transferir o coletado para o terceiro conjunto de tubos. Evitar coletar camada que divide o clorofórmio da fração a ser coletada;
13. Adicionar 250 microlitros de isopropanol gelado (-20°C) e homogeneizar a solução gentilmente. Nessa etapa ocorre a precipitação do DNA existente;
14. Colocar os tubos a -4°C por pelo menos 30 minutos para auxiliar na precipitação;

15. Centrifugar por 30 minutos a 14.000 rpm para formação do pellet;
16. Descartar o sobrenadante com cuidado para não perder o pellet. Adicionar 1 ml de etanol 75% (- 20°C) para lavar o pellet;
17. Centrifugar por dois minutos a 14.000 rpm;
18. Descartar o sobrenadante com cuidado para não perder o pellet. Adicionar 1 ml de etanol 100% (- 20°C) para lavar o pellet;
19. Centrifugar por dois minutos a 14.000 rpm;
20. Descartar o sobrenadante com cuidado para não perder o pellet. Secar o pellet a temperatura ambiente overnight ou máquina vácuo (speed-vac);
21. Adicionar pelo menos 50 microlitros de TE estéril (Tris-EDTA Ph 8,0) para diluir o pellet (100 microlitros para pellets visíveis) e deixar os tubos a 4°C overnight;
22. Estocar o DNA a 4°C para uso imediato ou a -20°C para usos menos frequentes.

Tampão de Extração de DNA de pelos:

Para 50 mL adicionar:

4,09 g de NaCl

100 µL de 2-mercaptoetanol

5 mL de 1M Tris-HCl (pH=8,0)

2 mL de EDTA (pH=8,0)

1 g de CTAB

40 mL de H₂O (deionizada)

Autoclavar

Preparo das Soluções:**Tris 1 M (pH=8,0) – para 50 mL**

6,06 g Tris

Dissolver em 37,5 mL H₂O (deionizada)

Ajustar o pH com HCl

Completar o volume para 50 mL e Autoclavar

EDTA (pH=8,0) – para 50 mL

3,72 g de EDTA

Dissolver em 37,5 mL de H₂O (deionizada)

Ajustar o pH com NaOH

Completar o volume para 50 mL

Autoclavar

APÊNDICE B

Tabela B. Protocolos das reações da polimerase em cadeia (PCR) para cada multiplex.

Multiplexes	Reagentes		Primers (mM)				DNA (µL)	Volume Final (µL)
	Master Mix (µL)	Q. Solution (µL)	H ₂ O	1	2	3		
M1	3,0	0,6	0,22	0,09	0,09	-	2,0	6,0
M2	3,0	0,6	0,13	0,09	0,09	0,09	2,0	6,0
M3	3,5	0,7	0,47	0,11	0,11	0,11	2,0	7,0
M4	3,0	0,6	0,13	0,09	0,09	0,09	2,0	6,0
M5	3,5	0,7	0,41	0,11	0,14	0,14	2,0	7,0
M6	3,0	0,6	0,04	0,12	0,09	0,15	2,0	6,0
M7	3,5	0,7	0,34	0,32	0,14	-	2,0	7,0
M8	3,0	0,6	0,14	0,11	0,15	-	2,0	6,0
M9	3,5	0,7	0,41	0,21	0,18	-	2,0	7,0
M10	3,0	0,6	0,1	0,15	0,15	-	2,0	6,0
M11	3,0	0,6	0,13	0,09	0,09	0,09	2,0	6,0
M12	3,5	0,7	0,47	0,11	0,11	0,11	2,0	7,0

M1: P1=SRCRSP9; P2=OarJMP29

M2: P1=OarFCB193; P2=MAF70; P3=OarAE129

M3: P1=BM8125; P2=SRCRSP5; P3=BM1824

M4: P1=OarCP34; P2=SRCRSP1; P3=OarFCB128

M5: P1=OarJMP58; P2=HUIJ616; P3=MCM527

M6: P1=ILSTS11; P2=ILSTS28; P3=MAF214

M7: P1=OarFCB304; P2=MAF65

M8: P1=DYMS1; P2=OarFCB226

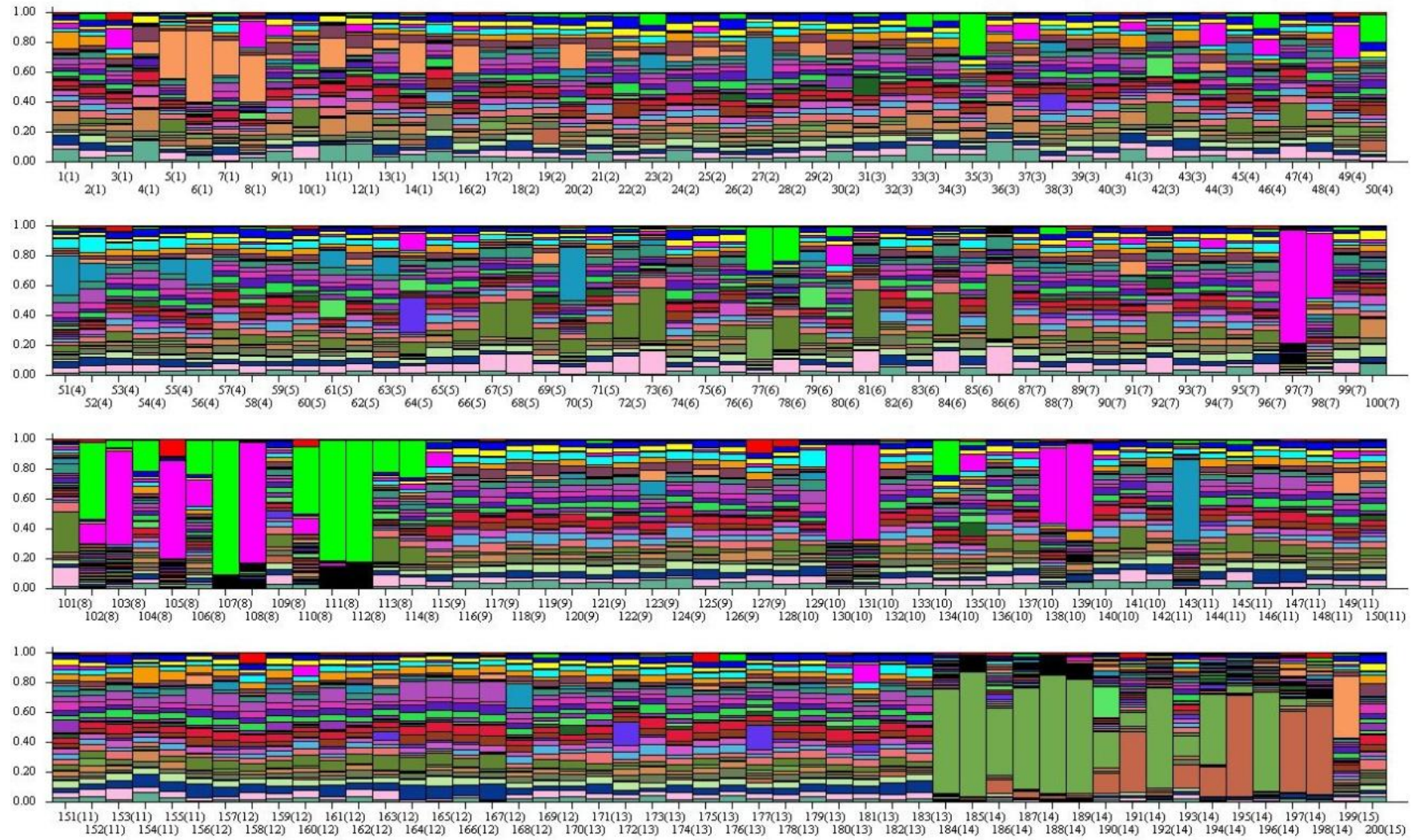
M9: P1=INRA63; P2=MCM140

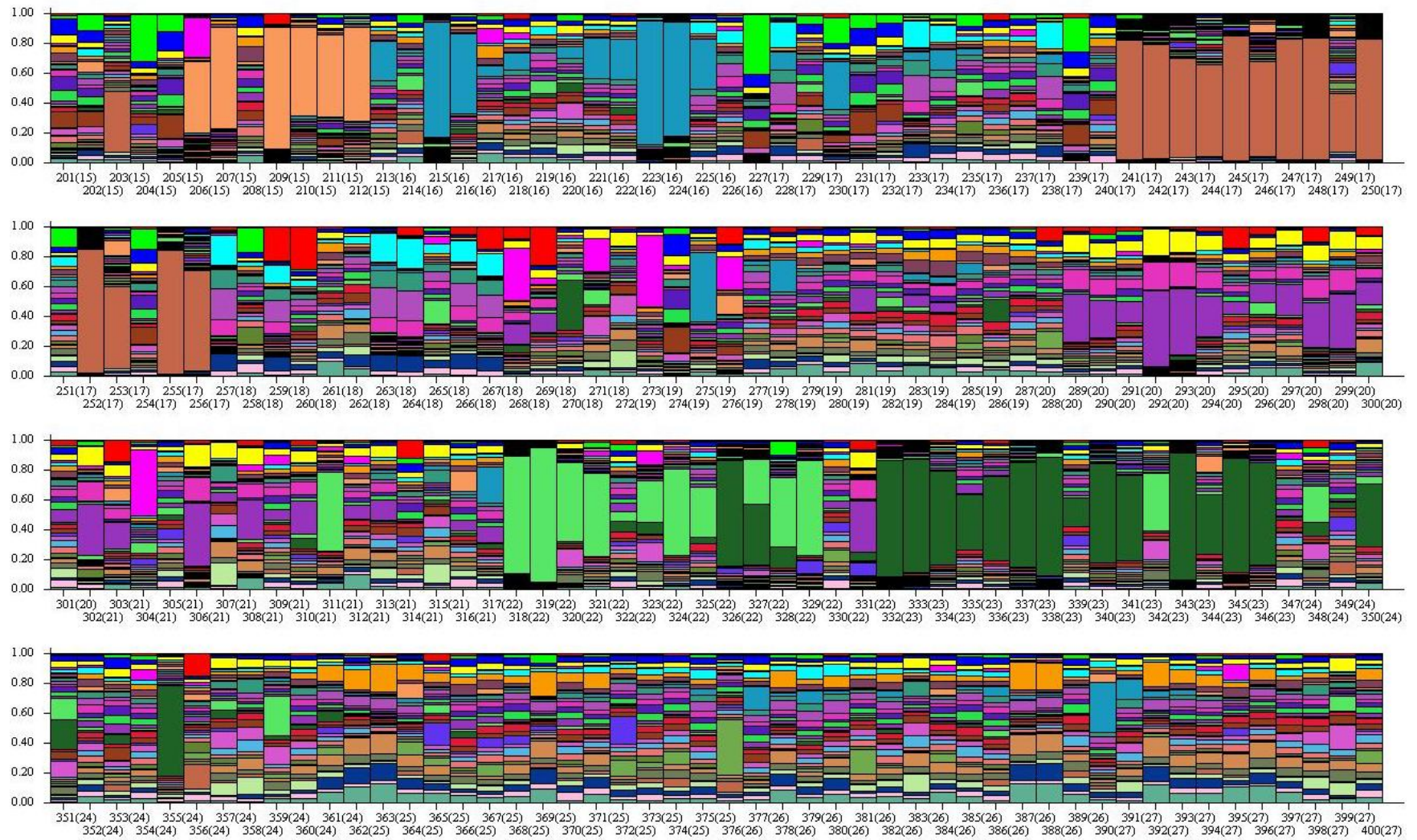
M10: P1=ILSTS5; P2=MAF33

M11: P1=BM1329; P2=OarFCB20; P3=OarHH47

M12: P1=OarCP38; P2=MAF209; P3=OarVH72

APÊNDICE C





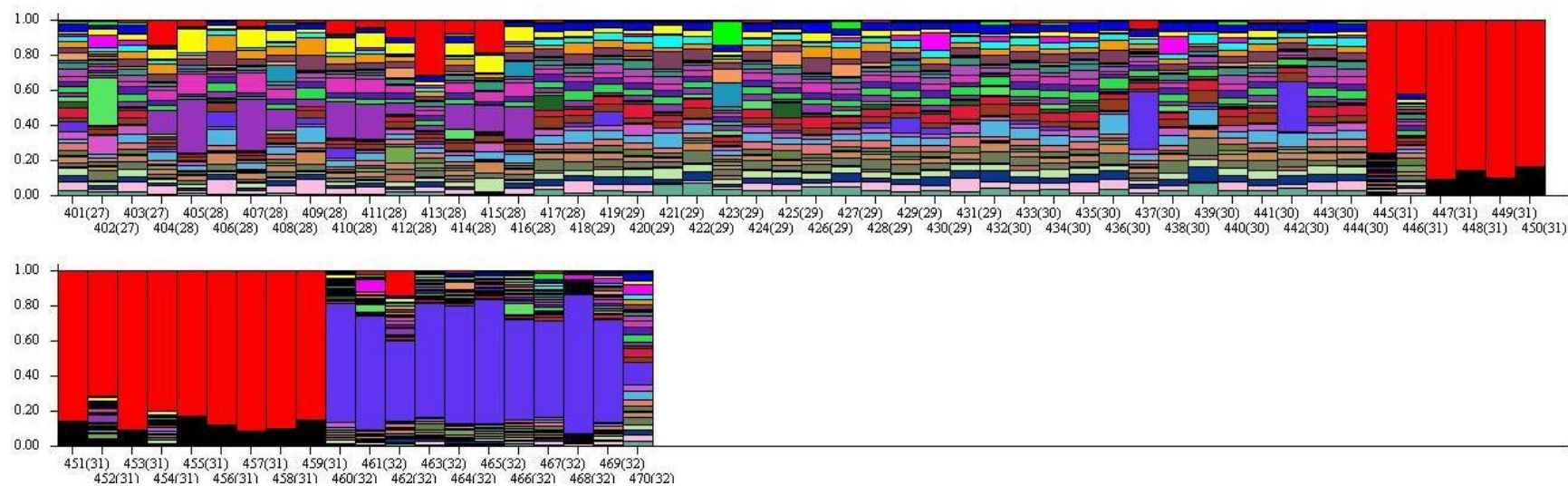


Figura C. Distribuição da estrutura genética dos 470 ovinos investigados neste estudo com o programa *Structure* para $K=33$.